

양식넙치 *Paralichthys olivaceus*의 성장단계별, 계절별 혈액학적 성장비교

김원진 · 김영수 · 장영진[†]
부경대학교 해양바이오신소재학과

Comparison of Hematological Properties in Cultured Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* on Different Growth Stages and Seasons

Won Jin Kim, Young Soo Kim and Young Jin Chang[†]

Dept. of Marine Bio-materials and Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

ABSTRACT : This study was conducted to examine the hematological factors in cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* depending on its growth stage and season. The study also aims at developing the standard hematological indicator for growth stage and season by examining total 16 parameters including whole blood (hematocrit, red blood cell and hemoglobin), biochemical (glucose, cholesterol, total protein, AST, ALT, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺, Mg²⁺ and osmolarity), and endocrine (cortisol and T₃) factors in plasma of cultured olive flounder. The result showed a growth stage-dependent increase of T₃ level in olive flounder while the level of cholesterol showed an inverse correlation to fish size. For seasonal fluctuation in cultured olive flounder of the same growth stage, the highest level of Ht and RBC was observed in autumn.

Key words : Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, Hematological property, Growth stage, Seasonal change.

요 약 : 이 연구는 양식넙치의 성장단계별 및 계절에 따른 생리학적 반응과 혈액학적 요소들을 파악하고자 하였으며, 분석된 항목으로는 hematocrit, red blood cell, hemoglobin, 글루코스, 콜레스테롤, 총단백질, AST, ALT, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺, Mg²⁺, osmolality, 코티졸 및 T₃였다. 성장단계별 혈액학적 성장에 있어 T₃는 어류의 크기가 클수록 증가하는 경향을 나타내었다. 반면, 콜레스테롤은 어체의 크기가 클수록 감소하는 경향을 보였다. 계절별 혈액학적 성장에 있어 Ht와 RBC는 가을에 가장 높은 수준을 나타냈다. 코티졸은 모든 그룹에서 2.2±0.4~4.3±1.9 ng/ml의 농도를 보였다. 나머지 혈액학적 요소는 성장단계별, 계절별로 특이한 차이를 나타내지 않았다. 본 연구에서 분석·비교한 각종 혈액학적 요소의 측정값은 양식넙치의 생리활성 평가에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

서 론

한국의 어류 양식 산업은 소수의 품종을 집중 생산함으로써 경쟁적으로 과다 생산을 유발하고 있다. 이에 따라 시장 경제에 걸맞는 계획적 생산과 소비가 어려워지고, 특히 횡감 어류의 성수기인 여름철에 고수온과 적조 유입, 호우에 따른 염분 저하 등의 스트레스에 의해 생리활성이 약화된 양식어류가 질병에 걸리거나 대량 폐사하는 사례가 빈발한다. 이는 양식의 생산성을 떨어뜨리는 원인이 될 뿐 아니라, 빈번한 약제 사용, 어류의 질병 저항성 약화로 인한 생산비용의 상

승 및 어가 하락의 요인이 되기도 한다. 그러므로 체중 성장 위주에서 생리활성 연구를 통한 고품질 어류 생산 위주로 생산체계가 이동되어야 한다. 또한 어류 양식장은 폐사어가 대량 발견될 때만 질병 유무 검사를 의뢰할 정도로 대응속도가 느리고, 양식 중인 어류의 생리활성도를 미리 판정할 수 있는 기준에 대한 연구결과가 미비한 실정이다. 이처럼 한국의 어류 양식 생산은 양적 팽창에만 치중해온 데다 질병의 발생에 대하여도 예방적 차원이 아닌 대응적 차원의 치료를 위주로 해 왔을 뿐, 건강도 관리를 위한 생리활성 연구는 아직 본격적으로 시도되지 않고 있다. 현재까지 어류의 성장에 관한 연구결과는 몇몇 문헌에서 찾아 볼 수 있지만(Chang et al., 1996; Min et al., 2006; Myeong et al., 1997), 성장 상황 이외에 생리활성과 건강도 등을 제시한 연구결과는 아직까지

[†] 교신저자: 부산시 남구 대연3동 599-1 부경대학교 해양바이오신소재학과. (우) 608-737, (전) 051-629-5915, (팩) 051-629-5908, E-mail: yjchang@pknu.ac.kr

찾아볼 수 없다.

어류 양식 현장에서는 핸들링과 선별(Hur et al., 2001), 가두기(Tomasso et al., 1983) 및 약제 투여(Thomas & Robertson, 1991) 등 인위적 스트레스 요인뿐만 아니라, 수온 및 염분(Chang et al., 2001)의 급변, 사육밀도(Wedemeyer & McLeay, 1981), 수질(Smart, 1981) 등 환경적 스트레스 요인에 의해 어체가 생리적 변화를 나타낸다(Barton, 1991). 특히, 스트레스는 생체 내 대사뿐만 아니라 혈액성상의 변화를 야기하므로 생리작용과 혈액성상의 변화에 관한 연구가 진행되고 있다. 어류의 혈액성상 변화에 관하여는 수온(Chang et al., 1999), 염분(Chang et al., 2002), 마취(Kim et al., 2005) 등의 요인에 따른 연구가 이루어진 바 있다. 그러나 이들의 연구결과는 실험적 수준에서 구명된 것일 뿐, 실제 양식장에서 방양, 선별, 절식 및 수온 등 다양한 환경관리하에서 정상적으로 사육되고 있는 어류의 혈액성상이 정기적으로 연구된 바는 없다. 그러므로 임상적 차원이 아닌 현장양식장에서 정상적으로 사육한 어류의 성장단계별, 계절별로 혈액생리학, 내분비학적, 조직학적 측면의 연구가 필요하다.

인간의 경우, 수 십 년에 걸쳐 집적된 혈액성상 데이터를 통해 정상인의 혈액검사 항목에 대한 기준이 설정되어 소량의 혈액만으로 건강진단이 가능하다. 그러나 수중에서 서식하는 어류는 질병에 의해 손상부위가 체표면에 나타나기 이전에는 생리활성을 파악하기가 어렵다. 그러므로 양식어류도 인간과 마찬가지로 현장의 어류를 죽이지 않고 소량의 체혈만으로 정상어의 혈액검사 항목에 대한 기준이 설정된다면 생리활성을 평가하는 데 분석된 혈액성상이 유용하게 사용될 것으로 기대된다.

인간 혈액검사 항목의 수치기준이 성인과 소아가 따로 설정되어 있는 것처럼 어류의 성장단계를 소형어, 중형어 및 대형어로 구분하여 혈액분석을 통해 생리활성도를 평가할 필요가 있다. 또한 인간을 포함한 항온동물은 계절에 관계없이 일정한 체온을 유지하기 때문에 외부온도의 변화가 성장이나 생리활성에 큰 영향을 미치지 않지만, 어류에게 수온은 성장, 번식 및 영양대사 등과 같은 생리학적 요인을 좌우하는 중요한 변수가 된다. Chang et al.(1999; 2001)은 수온 변화가 넙치의 성장에 영향을 미칠 수 있다고 하였다. 계절별 수온의 변화, 냉수대 현상 역시 어류의 성장, 번데, 번식 등에 영향을 준다. 특히, 외부온도에 의해 체온이 변화하는 변온동물은 미미한 온도 변화에도 성장 및 생존이 위협 받는 것

으로 알려져 있다(Logue et al., 1995). 그러므로 양식현장에서 수온 변화를 근간으로 하는 계절별 사육어류의 혈액성상을 검토해 볼 필요가 있다.

위와 같은 연구조사를 원만하게 진행하기 위하여 우선 양식생산이 가장 활발하게 이루어지고 있고, 방양부터 출하까지 비교적 관리가 손쉬운 어종인 넙치를 연구대상 종으로 하였다. 넙치는 한국 양식생산량의 약 40%를 차지하고 있을 만큼 대표적 양식어종이다(MIFAFF, 2009). 또한 일본, 미국, 대만 등으로 연간 3천 톤이 수출되고 있다. 이러한 대중적 양식어종인 넙치의 생리활성 평가를 위해 양식장에서 성장과정에 있는 넙치의 혈액성상을 분석하여 생리활성을 파악하는 것은 매우 의미 깊은 연구라고 판단된다.

본 연구에서는 동해남부 소재 육상수조식양식장을 대상으로 넙치의 성장단계별, 계절별 혈액성상을 비교하여 넙치의 생리활성을 평가하기 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험어와 사육조건

본 연구에서 사용된 실험어는 울산시 울주군 서생면에 위치한 육상수조식양식장에서 2008년 11월 3일에 방양되어 2009년 7월 14일까지 사육된 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 중 340마리를 사용하였다. 방양시 크기는 전장 27.0 ± 0.9 cm, 체중 215.6 ± 32.9 g이었다. 콘크리트 사육수조(6×6×1 m)에서 사육하면서 사료섭식이 활발하고 육안으로 건강한 어류를 선별하여 실험어로 사용하였다. 실험기간 중 사육조건으로서 수온, 염분 및 광주기 변화는 Fig. 1과 같으며, 환수량은 24회전/일(사육수심 40 cm)로 유지하였고, 충분한 에어레이션(고수온기 액화산소 공급)을 실시하였다. EP 배합사료를 1일 1회 오후 4시에 반복 투여하고 넙치의 성장에 따라 사료 크기를 달리하였다. 사료에 액상 비타민 C와 E, 소화효소제, 간기능 개선제를 첨가하여 공급하였다.

2. 혈액의 채취와 분석

혈액은 heparin 처리 주사기 2종(1 ml, 3 ml)을 사용하여 포획 후 마취하지 않고 미부혈관에서 30초 이내에 채취하였다. 채취한 전혈은 병냉상태를 유지하면서 자동혈액분석기(SEAC H5.m, Italy)로 Ht, RBC 및 Hb를 분석하였다. 나머지 혈액을 원심분리(6,500 rpm, 5분)하여 얻은 혈장은 분

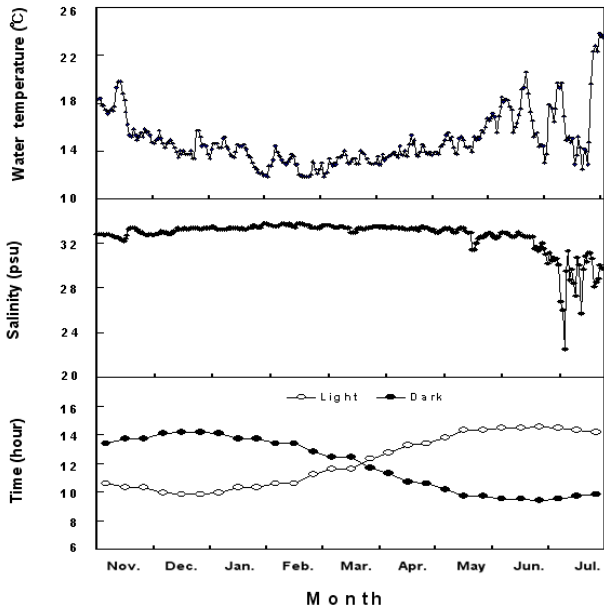


Fig. 1. Monthly variations of water temperature, salinity and photoperiod during experimental period.

석 전까지 -74°C 에 보관하였다. 혈장의 콜레스테롤, 총단백 질량 및 2가 이온(Ca^{2+} , Mg^{2+})은 건식혈액분석기(Ektachem DT-II analyzer, Eastman Kodak Co., USA)를, 글루코스, 1가 이온(Na^{+} , K^{+} , Cl^{-}), AST 및 ALT는 생화학 자동분석기 (Advid 1650, JEOL Co., Japan)를 사용하여 분석하였다. 또한 혈장 삼투질 농도는 micro-osmometer(3MO plus, Advanced Instruments Inc., USA)를 사용하여 분석하였다. 내분비학적 요인으로서 혈장 코티솔의 농도는 Donaldson (1981)의 방사면역측정법(RIA)에 따라 cortisol RIA kit(DSL, USA)로 항원과 표지항원이 항체에 경쟁적으로 반응하도록 유도한 다음, Hewlett Packard Gamma Counter(Cobra II 5010, Packard Co., USA)로 측정하였다. 혈장 T_3 는 T_3 FIA Kit(Biosewoom, Korea)를 사용하여 형광면역측정법(FIA)으로 분석하였다.

3. 성장단계별 혈액성상

양식장에 방양하는 시기의 넙치 중간종묘 크기를 소형어 (200 g), 최소 출하 크기를 중형어(500 g), 일반적 출하 크기를 대형어(800 g)로 분류하고, 이를 기준으로 선택한 어체의 무게에 따라 소형어(165~350 g), 중형어(351~650 g) 그리고 대형어(650~900 g)로 구분하여 혈액성상을 비

교하였다. 분석용 혈액은 1회 분석시 항목별 소요혈액량을 추정된 결과에 따라 소형어와 대형어는 3마리를 pooled sample하고, 중형어는 2마리를 pooled sample하여 확보하였다. 1회의 pooled sample은 10반복으로 채취하여 분석하였다.

4. 계절별 혈액성상

계절별로 상이한 성장단계의 어체(소형어, 중형어, 대형어)와 동일한 성장단계의 어체(대형어)로부터 채취한 혈액의 성상을 비교하였다. 계절별로 어체의 혈액성상을 비교하고자, 계절의 구분은 수온이 기온보다 1개월 가량 뒤늦게 상승·하강하는 점을 고려하여, 봄 4~6월, 여름 7~9월, 가을 10~12월 및 겨울 1~3월로 나눈 다음, 각 계절의 중심 월인 5월을 봄($14.9 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$), 8월을 여름($22.6 \pm 3.3^{\circ}\text{C}$), 11월을 가을($16.8 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$) 및 2월을 겨울($12.8 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$)로 설정하고 월별로 측정된 수온자료를 계절별 수온조건으로 정하였다. 계절별로 상이한 성장단계의 실험어는 일반 사육수조에서, 동일한 성장단계의 실험어는 정상적으로 사육한 같은 크기 그룹의 대형어 중에서 계절별로 혈액을 채취하여 분석하였다. 다만, 월별 성장 실험어(상이한 성장단계 해당) 중 가을에 해당하는 11월의 어류는 예기치 못한 어병이 발생하였기에 12월($14.3 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$)의 실험어로, 여름인 8월의 어류는 7월($17.5 \pm 3.7^{\circ}\text{C}$)의 실험어로 대체하여 조사하였다.

5. 통계처리

각 실험결과로부터 얻어진 자료값 사이의 유의차 유무는 SPSS-통계패키지(version 10.1)에 의한 ANOVA 및 Duncan's multiple range test 검정하였다($P=0.05$).

결 과

1. 성장단계별 혈액성상의 변화

1) 전혈의 일반성상

넙치의 성장단계에 따른 전혈의 Ht, RBC 및 Hb의 변화는 Table 1과 같다. Ht는 소형어, 중형어 및 대형어 모두에서 각각 26.4 ± 6.3 , 27.0 ± 4.4 , $27.2 \pm 2.3\%$ 로 유의한 차이를 나타내지 않았다. RBC와 Hb도 Ht와 마찬가지로 모든 성장단계에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

Table 1. Change of hematocrit, red blood cell and hemoglobin levels in whole blood of olive flounder *Paralichthys olivaceus* according to growth stages

Fish size	Ht (%)	RBC ($\times 10^6$ cell/ μ l)	Hb (g/dl)
Small	26.4 \pm 6.3 ^a	3.8 \pm 0.9 ^a	14.6 \pm 3.3 ^a
Middle	27.0 \pm 4.4 ^a	4.1 \pm 0.7 ^a	16.4 \pm 1.8 ^a
Large	27.2 \pm 2.3 ^a	4.0 \pm 0.2 ^a	16.4 \pm 1.0 ^a

The values are mean \pm SD. Means within each item followed by the same alphabetic letter are not significantly different ($P > 0.05$). Hb: hemoglobin, Ht: hematocrit, RBC: red blood cell.

2) 혈장의 이온 및 삼투질 농도

성장단계에 따른 혈장 Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} 및 삼투질 농도의 변화는 Table 2와 같다. K^+ 의 농도는 모든 성장단계에서 차이를 나타내지 않았지만, 소형어의 Na^+ 농도는 165.7 \pm 0.9 mEq/l로 중형어와 대형어에 비해 높았다($P < 0.05$). 반면에 Cl^- 농도는 소형어가 3.4 \pm 0.2 mEq/l로 중형어와 대형어에 비해 유의하게 낮은 수치를 보였다. Ca^{2+} 의 농도는 소형어 10.7 \pm 0.3 mg/dl, 중형어 10.7 \pm 0.4 mg/dl보다 대형어에서 11.5 \pm 0.7 mg/dl로 높았다. 그러나 Mg^{2+} 의 농도는 크기별로 각각 1.4 \pm 0.1, 1.4 \pm 0.2, 1.4 \pm 0.2 mg/dl로 유의한 차이를 보이지 않았다. 삼투질 농도에서는 중형어가 304.7 \pm 6.7 mOsm/kg으로 가장 낮은 반면, 대형어는 320.2 \pm 14.5 mOsm/kg으로 유의하게 높은 수치를 나타내었다.

3) 혈장의 생화학적 성상

성장단계별 넙치의 혈장 콜레스테롤 농도의 변화는 Fig. 2와 같다. 소형어, 중형어 및 대형어에서 각각 202.0 \pm 22.6, 166.6 \pm

26.8, 145.1 \pm 17.5 mg/dl로 어체 크기가 클수록 유의하게 낮아지는 경향을 보였다. 총단백질량은 성장단계별로 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2). 그러나 대형어의 AST와 ALT는 각각 13.6 \pm 4.3, 2.2 \pm 0.6 IU/l로 소형어 23.1 \pm 7.3, 2.8 \pm 0.4 IU/l, 중형어 19.5 \pm 8.3, 2.6 \pm 0.7 IU/l보다 유의하게 낮은 수치를 나타내었다(Fig. 2).

4) 혈장의 내분비학적 성상

넙치 소형어, 중형어 및 대형어의 혈장 코티졸 및 글루코코르티코이드의 농도는 Fig. 3과 같이 각각 7.82 \pm 5.4, 4.96 \pm 3.2, 4.33 \pm 1.6 ng/ml와 14.5 \pm 2.1, 15.4 \pm 3.2, 14.9 \pm 3.1 mg/dl로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 대사 관련 내분비호르몬인 갑상선호르몬(T_3)은 대형어가 8.47 \pm 1.0 ng/ml로 소형어 6.42 \pm 1.0 ng/ml, 중형어 7.25 \pm 1.2 ng/ml보다 유의하게 높았다(Fig. 3).

2. 계절별 혈액성상의 비교

1) 전혈의 일반성상

상이한 성장단계와 동일한 성장단계에 있는 넙치의 계절별 전혈의 Ht, RBC 및 Hb 값은 Table 3과 같다. Ht는 두 성장단계 모두에서 19.4 \pm 1.9~36.6 \pm 6.2%의 값을 보였으며, 두 성장단계 공히 가을(14.3~16.8 $^{\circ}$ C)에 각각 36.1 \pm 5.7%, 36.6 \pm 6.2%로 타 계절의 수준보다 유의하게 높았다($P < 0.05$). 한편, RBC 값은 최저 2.9 \pm 0.3에서 최고 4.9 \pm 1.0 $\times 10^6$ cell/ μ l까지의 범위였으며, 동일한 성장단계에서 여름(22.6 $^{\circ}$ C)에 최저값, 가을(16.8 $^{\circ}$ C)에 최고값을 나타냈다. 그리고 Hb 농도는 14.9 \pm 1.0~18.4 \pm 1.4 g/dl의 수준을 보이면서 상이한 성장단계에서 겨울(12.8 $^{\circ}$ C), 동일한 성장단계에서 봄과 겨울(12.8~

Table 2. Changes of Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} levels and osmolality in plasma of olive flounder *Paralichthys olivaceus* according to growth stages

Fish size	Na^+ (mEq/l)	K^+ (mEq/l)	Cl^- (mEq/l)	Ca^{2+} (mg/dl)	Mg^{2+} (mg/dl)	Osmolality (mOsm/kg)
Small	165.7 \pm 0.9 ^b	3.4 \pm 0.2 ^a	136.2 \pm 2.7 ^a	10.7 \pm 0.3 ^a	1.4 \pm 0.1 ^a	311.6 \pm 5.8 ^b
Middle	163.7 \pm 1.8 ^a	3.5 \pm 0.3 ^a	144.5 \pm 5.7 ^b	10.7 \pm 0.4 ^a	1.4 \pm 0.2 ^a	304.7 \pm 6.7 ^a
Large	162.5 \pm 3.5 ^a	3.4 \pm 0.3 ^a	144.1 \pm 5.6 ^b	11.5 \pm 0.7 ^b	1.4 \pm 0.2 ^a	320.2 \pm 14.5 ^c

The values are mean \pm SD. Means within each item followed by the same alphabetic letter are not significantly different ($P > 0.05$).

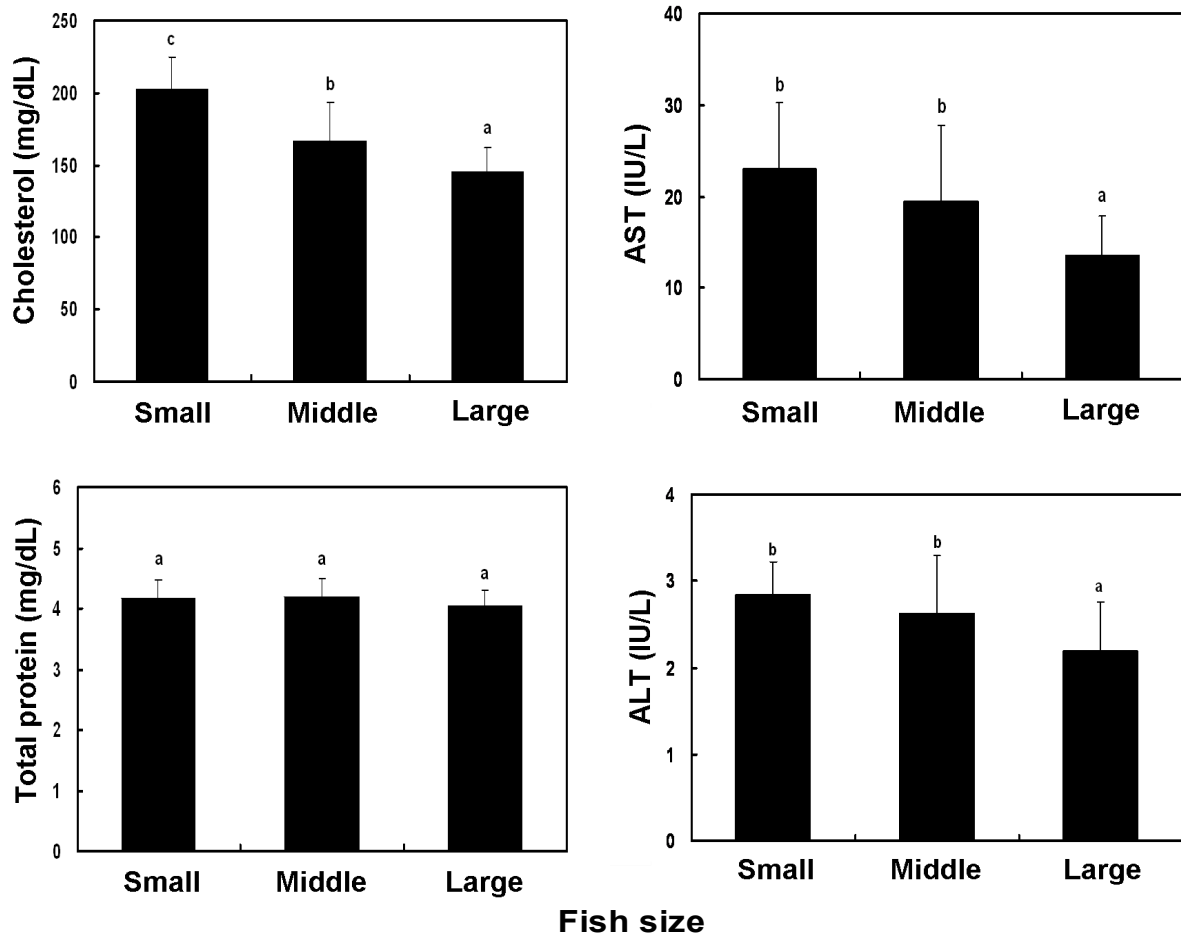


Fig. 2. Change of cholesterol, total protein, AST and ALT levels in plasma of olive flounder *Paralichthys olivaceus* according to growth stages. Same letters indicate no significant difference ($P>0.05$).

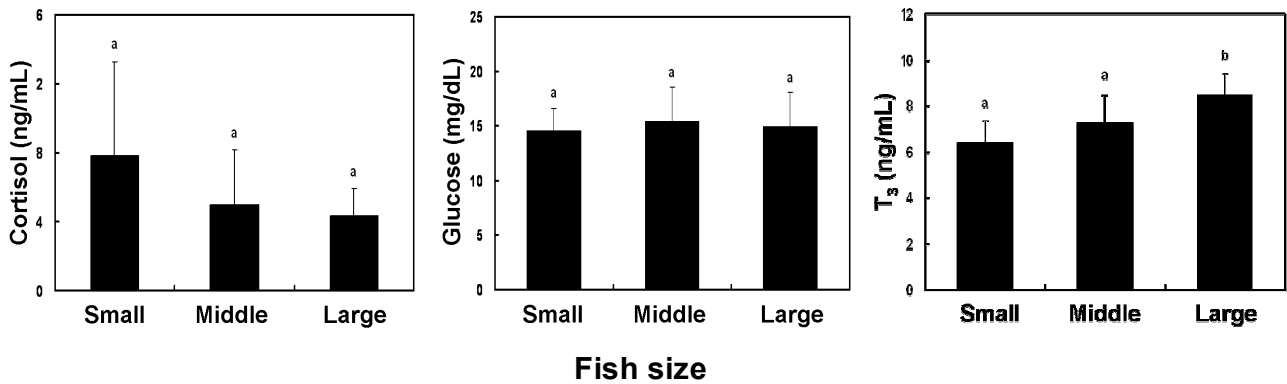


Fig. 3. Change of cortisol, glucose and T₃ levels in plasma of olive flounder *Paralichthys olivaceus* according to growth stages. Same letters indicate no significant difference ($P>0.05$).

Table 3. Changes of hematocrit, red blood cell and hemoglobin levels in whole blood of olive flounder *Paralichthys olivaceus* according to seasons

Season	Ht (%)		RBC ($\times 10^6$ cell/ μ l)		Hb (g/dl)	
	DGS	SGS	DGS	SGS	DGS	SGS
Spring	27.1 \pm 8.4 ^b	27.2 \pm 4.3 ^b	4.5 \pm 1.3 ^b	4.4 \pm 0.6 ^b	16.5 \pm 2.2 ^{ab}	17.5 \pm 2.9 ^{bc}
Summer	28.1 \pm 1.7 ^b	19.4 \pm 1.9 ^a	4.0 \pm 0.2 ^b	2.9 \pm 0.3 ^a	15.7 \pm 1.1 ^a	15.4 \pm 1.6 ^a
Autumn	36.1 \pm 5.7 ^c	36.6 \pm 6.2 ^c	4.5 \pm 0.5 ^b	4.9 \pm 1.0 ^c	14.9 \pm 1.0 ^a	14.9 \pm 1.0 ^a
Winter	27.1 \pm 3.9 ^b	26.3 \pm 3.3 ^{ab}	4.0 \pm 0.5 ^b	4.2 \pm 0.4 ^b	18.4 \pm 1.4 ^c	17.5 \pm 1.5 ^{bc}

The values are mean \pm SD. Means within each item followed by the same alphabetic letter are not significantly different ($P>0.05$). DGS: different growth stage, SGS: same growth stage, Hb: hemoglobin, Ht: hematocrit, RBC: red blood cell.

14.9 $^{\circ}$ C)에 높은 농도를 보였다.

2) 혈장의 이온 및 삼투질 농도

각각 상이한 성장단계와 동일한 성장단계에 있는 넙치의 계절별 혈장 Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} 및 삼투질 농도의 변화는 Table 4와 같다. 두 성장단계 모두에서 Na^+ 농도는 163.1 \pm 1.9~165.5 \pm 1.1 mEq/l의 범위로 유의한 차이를 보이지 않았다. K^+ 농도는 최저 3.0 \pm 0.3mEq/l에서 최고 4.2 \pm 0.2 mEq/l까지의 범위였으며, 동일한 성장단계에서 가을(16.8 $^{\circ}$ C)에 최고값을 보였다. Cl^- 농도는 두 성장단계 모두에서 135.7 \pm 2.5~150.5 \pm 1.1 mEq/L의 수치를 보였으며, 두 성장단계 모두 가을(14.3~16.8 $^{\circ}$ C)에 각각 137.1 \pm 7.0, 135.7 \pm 2.5 mEq/l로 타 계절의 농도보다 유의하게 낮았다($P<0.05$). Ca^{2+} 농도는 동일한 성장단계에서 여름(22.6 $^{\circ}$ C)과 가을(16.8 $^{\circ}$ C)에 각각 11.9 \pm 0.6, 12.2 \pm 1.3 mg/dl로 높은 농도를 보였다. 또한 Mg^{2+} 농도도 동일한 성장단계에서 여름과 가을에 1.9 \pm 0.2, 1.8 \pm 0.2 mg/dl로 다른 계절에 비해 높았다. 삼투질 농도는 297.0 \pm 2.4~312.9 \pm 7.1 mOsm/kg의 수준을 보였으며, 상이

한 성장단계에서 가을(14.3 $^{\circ}$ C)에 312.9 \pm 7.1 mOsm/kg으로 높게 나타났다.

3) 혈장의 생화학적 성상

상이한 성장단계와 동일한 성장단계에 따른 계절별 혈장 콜레스테롤의 변화는 Fig. 4와 같이 상이한 성장단계에서 봄과 여름에 각각 155.2 \pm 18.4, 139.3 \pm 11.8 mg/dl로 유의하게 낮았고, 상이한 성장단계에서 가을(14.3 $^{\circ}$ C), 동일한 성장단계는 겨울(12.8 $^{\circ}$ C)에 높은 수치를 보였다. 총단백질은 4.1 \pm 0.2~4.6 \pm 0.2 mg/dl의 수준을 보였으며(Fig. 4), 두 성장단계에서 봄에 각각 4.4 \pm 0.3, 4.6 \pm 0.2 mg/dl로 타 계절보다 높았다. 계절별 AST 변화에서 상이한 성장단계는 가을(14.3 $^{\circ}$ C)에 21.8 \pm 6.5 IU/l로 높은 반면, 동일한 성장단계는 가을(16.8 $^{\circ}$ C)에 9.3 \pm 2.8 IU/l로 낮았다(Fig. 4). 계절별 ALT의 변화는 상이한 성장단계에서 2.6 \pm 0.5~2.8 \pm 0.4 IU/l의 범위였으며, 동일한 성장단계 또한 1.9 \pm 0.6~2.3 \pm 1.1 IU/l로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 하지만 상이한 성장단계보다 동일한 성장단계에서 ALT 수치가 비교적 낮았다(Fig. 4).

Table 4. Changes of Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} levels and osmolality in plasma of olive flounder *Paralichthys olivaceus* according to seasons

Season	Na^+ (mEq/l)		K^+ (mEq/l)		Cl^- (mEq/l)		Ca^{2+} (mg/dl)		Mg^{2+} (mg/dl)		Osmolality (mOsm/kg)	
	DGS	SGS	DGS	SGS	DGS	SGS	DGS	SGS	DGS	SGS	DGS	SGS
Spring	164.2 \pm 0.9	164.0 \pm 0.9	3.6 \pm 0.3 ^c	3.1 \pm 0.1 ^a	147.2 \pm 2.8 ^{bc}	150.5 \pm 1.1 ^c	11.0 \pm 0.4 ^b	11.0 \pm 0.3 ^b	1.5 \pm 0.2 ^b	1.4 \pm 0.1 ^{ab}	303.7 \pm 6.8 ^{bc}	298.6 \pm 4.3 ^{ab}
Summer	163.1 \pm 1.9	163.3 \pm 3.8	3.4 \pm 0.2 ^b	3.0 \pm 0.3 ^a	146.2 \pm 3.8 ^{bc}	144.1 \pm 5.6 ^b	10.9 \pm 0.4 ^{ab}	11.9 \pm 0.6 ^c	1.3 \pm 0.1 ^a	1.9 \pm 0.2 ^c	300.6 \pm 3.8 ^{ab}	306.1 \pm 7.8 ^c
Autumn	165.5 \pm 1.1	164.2 \pm 2.1	3.5 \pm 0.2 ^{bc}	4.2 \pm 0.2 ^d	137.1 \pm 7.0 ^a	135.7 \pm 2.5 ^a	10.7 \pm 0.2 ^{ab}	12.2 \pm 1.3 ^c	1.4 \pm 0.1 ^{ab}	1.8 \pm 0.2 ^c	312.9 \pm 7.1 ^d	306.5 \pm 6.5 ^c
Winter	163.6 \pm 1.4	163.8 \pm 1.3	3.1 \pm 0.2 ^a	3.1 \pm 0.3 ^a	143.7 \pm 6.9 ^b	143.7 \pm 4.1 ^b	10.4 \pm 0.2 ^a	10.7 \pm 0.2 ^{ab}	1.3 \pm 0.1 ^a	1.5 \pm 0.2 ^b	306.8 \pm 3.9 ^c	297.0 \pm 2.4 ^a

The values are mean \pm SD. Means within each item followed by the same alphabetic letter are not significantly different ($P>0.05$). DGS: different growth stage, SGS: same growth stage.

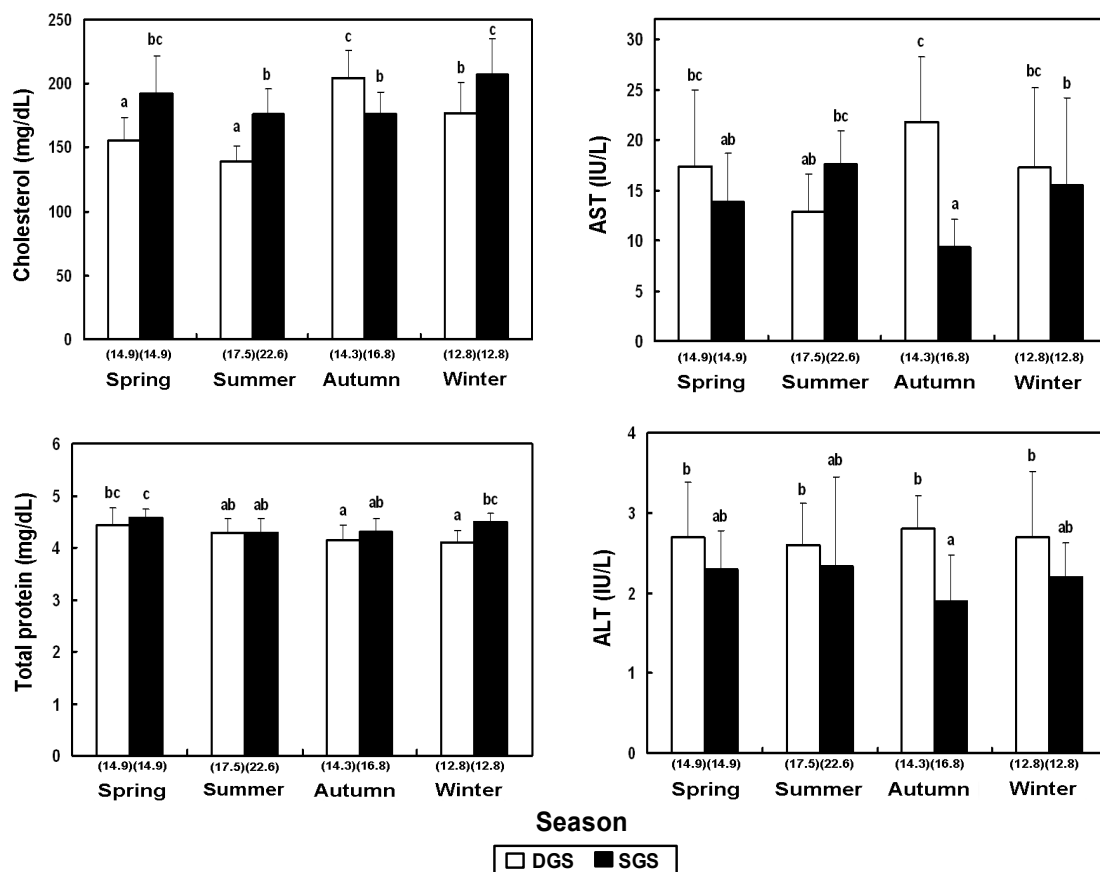


Fig. 4. Changes of cholesterol, total protein, AST and ALT levels in plasma of olive flounder *Paralichthys olivaceus* according to seasons. Numerals in parenthesis are water temperature (°C). Same letters indicate no significant difference ($P > 0.05$). DGS: different growth stage, SGS: same growth stage.

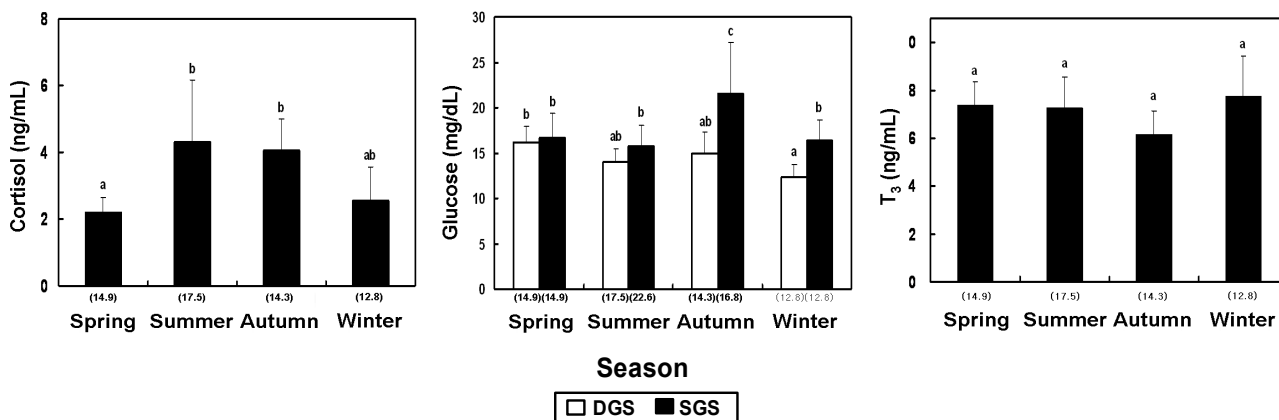


Fig. 5. Changes of cortisol, glucose and T₃ levels in plasma of olive flounder *Paralichthys olivaceus* according to seasons. Numerals in parenthesis are water temperature (°C). Same letters indicate no significant difference ($P > 0.05$). DGS: different growth stage, SGS: same growth stage.

4) 혈장의 내분비학적 성상

상이한 성장단계와 동일한 성장단계에 있는 넙치의 계절별 혈장 글루코스의 변화는 Fig. 5와 같이 $12.4 \pm 1.3 \sim 21.5 \pm 5.7$ mg/dl의 수준을 보였고, 동일한 성장단계에서 가을(16.8°C)에 21.5 ± 5.7 mg/dl로 다른 계절과 비교하여 유의하게 높게 나타났다($P < 0.05$). 코티졸과 갑상선호르몬(T_3)의 변화는 Fig. 5와 같다. 혈장 코티졸은 두 성장단계에서 $2.2 \pm 0.4 \sim 4.3 \pm 1.9$ ng/ml의 범위를 나타냈고, 여름(22.6°C)과 가을(16.8°C)에 각각 4.3 ± 1.9 , 4.1 ± 0.9 로 높았다. 갑상선호르몬은 $6.1 \pm 1.0 \sim 7.7 \pm 1.7$ ng/ml 범위로 유의한 차이를 보이지 않았다.

고 찰

인간이 소량의 혈액검사를 통해 건강진단이 가능한 것과 마찬가지로 어류의 혈액은 생리상태의 변화를 파악할 수 있는 요인으로 수온, 염분 및 수송의 각종 스트레스 연구(Cataldi et al., 1998; Sadler et al., 2000; Min et al., 2006), 사료 및 면역증강 물질의 영양학적 연구(Lee et al., 2003) 등 다양한 분야에서 연구되어 왔다. 변온동물인 어류에 대하여는 다양한 혈액성분의 생리활성 수준을 설정하고자 하였지만, 실험조건이나 환경에 따라 결과가 다르기 때문에 1~2회의 조사결과 만으로 정상기준값이 확립되었다고 보기는 힘들다. 또한 지금까지 진행된 다른 연구결과들은 실제 양식장에서 나타나는 수송, 선별, 절식 및 질병 등과 같은 사육관리 환경에서 이루어진 것이 아니기 때문에, 현장 양식장에서 조사·분석한 본 연구의 결과와는 차이가 있을 것으로 예상된다.

어류가 스트레스를 받으면 뇌-교감신경-크롬친화세포축(Perry & Reid, 1993)과 뇌-뇌하수체-간신선축(Specker et al., 1989)의 두 계 활성이 높아져 일차반응으로 카테콜아민과 코티졸이 증가하고 신경전달물질 활동이 변화한다. 2차적으로 카테콜아민과 코티졸이 혈액과 조직에 빠르게 작용하여 글루코스나 젖산 증가의 대사 변화, 열충격단백질의 생성증가와 같은 세포적 변화, 이온과 물 균형의 삼투압 조절 혼란, 적혈구, 백혈구, 헤모글로빈의 혈액학적 변화, 라이소자임 활성과 항체 생산의 면역기능 변화 등이 나타나고, 3차적 반응으로 성장, 번식, 유능능력, 질병저항의 변화 그리고 섭식 등 행동패턴의 변화를 나타낸다. 따라서 본 연구에서는 성장단계별, 계절별로 혈액학적 변화(2차적 반응)의 비교를 시작으로 하여 양식넙치

의 생리활성을 평가할 수 있는 혈액성상 정상수준을 찾고자 하였다.

Ht, RBC 및 Hb 혈액 인자는 생체의 산소운반 능력(Chang et al., 1999)을 가지며, 스트레스와 생리활성 지표로 사용된다. 해수어류에 있어 스트레스는 일반적으로 Ht, RBC, Hb를 증가시키고, 이는 혈액의 산성화 및 비장의 축소 등으로 나타난다. 성장단계별 혈액성상에서 Ht, RBC, Hb는 차이를 보이지 않아 어체 크기에 따른 산소운반 능력의 차이가 없음을 확인하였다. 그러나 동일한 성장단계의 계절별 혈액성상에서는 가을에 Ht, RBC가 증가하는 경향을 나타내었다. 해산어류에 있어 수온상승 자극은 Ht, RBC 및 Hb를 증가시키고, 수온하강 자극은 이와 반대의 경향을 나타내는 것으로 보고되고 있다(Chang et al., 1999; 2001). 본 연구에서는 수온상승시기인 봄보다 수온하강시기인 가을에 Ht, RBC가 오히려 증가한 점은 장기간 수온 변화에 따른 보다 심도있는 일반 혈액성상의 연구를 요구하고 있다.

삼투압 조절 측면에서 혈장 Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} 및 삼투질 농도는 성장단계별, 계절별로 유의한 차이를 나타냈다. Na^+ 농도는 최저 162.5 ± 3.5 에서 최고 165.7 ± 0.9 의 범위로 수온 변화나 크기에 따른 영향을 적게 받는 것으로 나타났다. Chang et al.(2001)과 Hur et al.(2001)는 해산어류의 삼투질 농도는 $350 \sim 450$ mOsm/kg으로 보고하였지만 본 연구에서는 삼투질 농도가 $297.0 \pm 2.4 \sim 320.2 \pm 14.5$ mOsm/kg으로 해산어류보다 낮았다. 넙치의 경우, 광염성 어류로 알려져 있어(Higashimoto et al., 2001; Sampaio & Bianchini, 2002) 삼투질 농도의 범위가 더 클 것으로 예상되며, 본 연구에서 삼투질 농도는 큰 변화를 나타내지 않았기 때문에 성장단계별, 계절별로 따른 삼투압 조절기능과 항상성 유지에 문제가 없는 것으로 판단된다. 사료 및 환경수중에서 유해한 물질이 상존할 경우, 어류 체내의 Mg^{2+} 농도가 변동을 나타낼 수 있는데(Leatherland & Sonstegard 1981; Singh & Singh 1997), Mg^{2+} 의 증가는 조직 등에서 혈액속으로 유입된 것으로 짐작할 수 있다(Ma et al., 1995). 본 연구의 성장단계별 혈장 Mg^{2+} 은 $1.4 \pm 0.1 \sim 1.4 \pm 0.2$ mg/dl로 유의차를 보이지는 않아 사료 및 유해물질과의 연관성은 없는 것으로 판단되지만, 계절별 혈장 Mg^{2+} 은 $1.3 \pm 0.1 \sim 1.9 \pm 0.2$ mg/dl의 범위로 차이를 보이며, 어체크기보다는 온도의 영향이 큰 것으로 판단된다.

Davis & Parker(1990)에 따르면 AST와 ALT는 생체내에

서 중요한 당, 지질, 단백질대사에 관여하는 효소로서, 어체 생리상태가 좋지 않을수록 간의 장애(Gordon, 1968)가 일어나거나 조직의 괴사가 일어나고, 병적 증상이 나타날 때 활성이 높아져 혈중 농도가 증가하는 것으로 알려져 있다. (Casillas & Ames, 1985; Rao et al., 1990). 본 연구에서 성장단계별 혈장 AST, ALT는 대형어가 각각 13.6 ± 4.3 , 2.2 ± 0.6 IU/l 로 소형어 23.1 ± 7.3 , 2.8 ± 0.4 IU/l 와 중형어 19.5 ± 8.3 , 2.6 ± 0.7 IU/l 보다 유의하게 낮은 수치를 나타내었는데, 어체크기에 비례하여 스트레스에 대한 저항성이 커지는 것으로 판단된다. AST, ALT는 인간의 혈액검사시 기본항목으로서 생리적, 생화학적 및 환경적 조건에 따라 변화하기 때문에 어류에서도 비교 대상이 될 수 있는 안정시 수준의 설정이 필요하다.

어류에 작용하는 다양한 스트레스 요인은 신경 내분비계적 반응과 세포적 스트레스 반응을 일으키며, 이러한 반응은 삼투압 조절 혼란, 질병저항력 감소, 번식억제 등을 초래한다(Ackerman et al., 2000). 어류는 이러한 불안정한 생리상태를 극복하기 위해 항상성 유지에 필요한 에너지원(글루코스)을 필요로 하는데, 이때 신경내분비계는 당신생합성을 촉진시킨다(Munck et al., 1984). 또한 수온상승시 넵치의 혈장 코티졸 및 글루코스 농도가 유의하게 증가(Chang et al., 2002)하는데 비해, 본 연구에서는 수온하강기인 가을에 가장 높은 수치를 나타냈다. 이는 수온상승보다 하강에 있어 넵치의 생리적 적응을 위한 반응인 것으로 판단된다. Hur(2002)는 넵치의 안정시 글루코스 농도는 평균 30.3 mg/dl라고 하였는데, 본 연구에서는 $12.4 \pm 1.3 \sim 21.5 \pm 5.7$ mg/dl의 범위로 낮은 값을 나타냈다. 따라서 같은 안정상태라 하더라도 사육환경 등의 조건에 의해 그 수준이 변화할 수 있다고 판단되며, 넵치는 저서성 어류로서 운동성이 낮아 항상성유지를 위한 에너지원의 사용이 적으므로 본 연구결과가 안정시 수준에 포함될 수 있을 것으로 판단된다. 그리고 Chang et al.(2001)과 Hur et al.(2001)의 연구에서는 스트레스를 가하기 전 코티졸 농도의 안정값은 $1.2 \sim 5.0$ ng/ml 수준이라 하였으며, 본 연구의 성장단계별, 계절별 수치는 각각 $4.3 \sim 7.8$, $2.2 \sim 4.3$ ng/ml로 Chang et al.(2001)과 Hur et al.(2001)이 언급한 수준과 비슷하였다. 그러나 질병어는 11.0 ± 2.6 ng/ml로 비교적 높은 수치를 나타냄으로써 안정시보다 스트레스를 더 받고 있음을 알 수 있다. 또한 본 연구에서는 주지의 경향인 코티졸/글루코스 수준의 동반상승이 나

타나지 않았다. 이것은 코티졸에 의해 글루코스 신생합성이 일어나기 전에 항상성 유지를 위해 글루코스가 에너지원으로 급격히 사용되었거나, 코티졸보다 빠른 시간 이내에 이전의 농도로 회복되었을 가능성도 있다.

계절별 혈장 T₃의 수준은 $6.1 \pm 1.0 \sim 7.7 \pm 1.7$ ng/ml로서 서로 유의한 차이를 나타내지 않았지만, 넵치의 성숙시기인 6월에 8.3 ± 1.1 ng/ml로 높은 수치를 나타내어 번식에 따른 T₃의 상승을 확인하였다. 성장단계별 변화에서 크기에 비례하여 혈장 T₃ 농도가 증가하는 점으로 보아 성장단계에 따라 T₃ 요구량이 달라짐을 알 수 있다.

어류의 총단백질 농도는 환경오염의 지표로 사용되고 있으며(Hodson et al., 1992), 일반적으로 오염물질에 의해 감소하는데, 그 원인 중 하나는 장관 손상에 따른 흡수 장애를 들 수 있다(Mater et al., 1985; Yamawaki et al., 1986). 본 연구의 성장단계별, 계절별 총단백질 농도는 최저 4.1 ± 0.3 에서 최고 4.6 ± 0.2 g/dl 수준이었는데, Kang et al. (2004)이 제시한 안정값 $2.71 \sim 2.86$ g/dl보다 높게 나타남으로써, 오염물질에 의한 영향을 받지 않은 것으로 판단된다. 경골어류의 총단백질의 농도는 대개 $4 \sim 7$ g/dl의 수준(Yanagisawa & Hashimoto, 1984)으로 보고되어 있으며, 본 연구에서 사용된 실험어는 단백질대사에 문제가 없는 것으로 판단된다.

어류의 혈액성상은 영양, 건강상태 및 스트레스 해석에 활용되며, 사료의 필수영양소 결핍이나 그 어종이 처해 있는 서식 환경 및 성장에 따라서 변화한다고 알려져 있으며(Garrido et al., 1990), 콜레스테롤 또한 변화한다고 보고된 바 있다(Park et al., 1999). 본 연구에서는 성장단계에 따라 콜레스테롤이 감소하는 경향을 나타냈는데, 이는 성장단계에 따른 필요 영양소의 차이에 기인하는 것으로 예상된다.

넵치는 수온(Chang et al., 2001), 수심감소(Hur et al., 2001) 및 수송(Chang et al., 2001)에 저항성이 강한 어종으로 알려져 있으나, 성장단계별, 계절별, 질병어와 정상어의 혈액성상 기준값을 설정하기 위한 보다 더 많고 다양한 연구가 필요하다.

감사의 글

이 논문은 2008학년도 부경대학교의 지원(PK-2008-049)을 받아 수행된 연구이며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Ackerman PA, Forsyth RB, Mazur CF, Iwama GK (2000) Stress hormones and the cellular stress response in salmonids. *Fish Physiol Biochem* 23:327-336.
- Barton BA, Iwama GK (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Ann Rev Fish Dis* 1:3-26.
- Casillas E, Ames W (1985) Serum chemistry of diseased English sole, *Parophrys vetulus* Girard, from polluted areas of Puget Sound, Washington. *J Fish Dis* 8:437-449.
- Cataldi E, Marco PD, Mandich A, Cataudella S (1998) Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress. *Comp Biochem Physiol Part A* 121:351-354.
- Chang YJ, Lee YC, Lee BK (1996) Comparison of growth and survival rates of juvenile grey mullets (*Mugil cephalus*) in different salinities. *J Aquacult* 9:311-320.
- Chang YJ, Hur JW (1999) Physiological responses of grey mullet (*Mugil cephalus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by rapid changes in salinity of rearing water. *J Kor Fish Soc* 32:310-316.
- Chang YJ, Park MR, Kang DY, Lee BK (1999) Physiological responses of cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) on series of lowering seawater temperature sharply and continuously. *J Kor Fish Soc* 32:601-606.
- Chang YJ, Hur JW, Lim HK, Lee JK (2001) Stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) and fat cod (*Hexagrammos otakii*) by the sudden drop and rise of water temperature. *J Kor Fish Soc* 34:91-97.
- Chang YJ, Min BH, Chang HJ, Hur JW (2002) Comparison of blood physiology in juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*) reared in converted freshwater from seawater and seawater from freshwater. *J Kor Fish Soc* 35:595-600.
- Davis KB, Parker NC (1990) Physiological stress in striped bass: Effect of acclimation temperature. *Aquaculture* 91:349-358.
- Donaldson EM (1981) The Pituitary-Interrenal Axis as an Indicator of Stress in Fish. pp 11-47 in Pickering AD. Garrido MA, Perez P, Titus JA, Valdayo MJ, Winkler DF, Barbieri SA, Wunderlich JR, Segal DM (1990) Targeted cytotoxic cells in human peripheral blood lymphocytes. *J Immunol* 144:2891-2898.
- Gordon RB (1968) Distribution of transaminases (Aminotransferases) in the tissue of the Pacific salmon (*Oncorhynchus*) with emphasis on the properties and diagnostic use of glutamic oxaloacetic transaminase. *J Fish Res Bd Can* 25:1247-1268.
- Higashimoto Y, Nakao N, Ohkubo T, Tanaka M, Nakashima K (2001) Structure and tissue distribution of prolactin receptor mRNA in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*): conserved and preferential expression in osmoregulatory organ. *Gen Comp Endocrinol* 123:170-179.
- Hodson PV, McWhirter M, Ralph K, Gray B, Thivierge D, Carey JH, Van-Der-Kraak G, Whittle DM, Levesque MC (1992) Effects of bleached kraft mill effluent on fish in the St. Maurice River, Quebec. *Environ Toxicol Chem* 11:1635-1651.
- Hur JW, Chang YJ, Lim HK, Lee BK (2001) Stress responses of cultured fishes elicited by water level reduction in rearing tank and fish transference during selection process. *J Kor Fish Soc* 34:465-471.
- Hur JW (2002) Physiological responses of fishes to the artificial stresses in the process of aquaculture. Ph.D. Thesis, Pukyong National University, Busan, Korea.
- Kang JC, Jee JH, Song SY, Moon SW (2004) Effects of oral administration with fermented product from sewage in land-based seawater fish farm on haematological factors of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J Fish Pathol* 17:57-66.
- Kim JH, Hur JW, Park IS, Kang HK, Chang YJ (2005) Effect of different anesthetic doses of MS-222 and lidocaine-HCl on the blood physiological responses in black rockfish, *Sebastes schlegelii*. *J Aquacult* 18:36-244.
- Leatherland JF, Sonstegard RA (1981) Effect of dietary

- mirex and PCBs on calcium and magnesium metabolism in rainbow trout, *Salmo gairdneri* and coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* : A comparison with great lakes coho salmon. *Comp Biochem Physiol C* 69:45-351.
- Lee S, Lee JH, Kim K (2003) Effect of dietary essential fatty acids on growth, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture* 225:69-281.
- Logue J, Tiku P, Cossins AR (1995) Heat injury and resistance adaptation in fish. *J Ther Biol* 20:91-197.
- Ma G, Lin H, Zhang W (1995) Effects of cadmium on serum gonadotropin and growth hormone in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *J Fish China Shuichan Xuebao* 19:20-126.
- Mater KS, Mayer FL, Witt A (1985) Waste transformer oil and PCB toxicity to rainbow trout. *Am Fish Soc* 114:69-886.
- MIFAFF (2009) Statistic Database for Fisheries Production. Retrieved from <http://www.fips.go.kr> on Oct 31.
- Min BH, Noh GA, Jeong MH, Kang DY, Choi CY, Bang IC, Chang YJ (2006) Effect of oral administration of thyroid hormone on physiological activity and growth of black porgy reared in freshwater or seawater. *J Aquacult*. 19:49-156.
- Munck A, Guyre PM, Holbrook J (1984) Physiological functions of glucocorticoid in stress and their relationship to pharmacological action. *Endocrinol Rev* 5:5-34.
- Myeong JI, Pack SY, Chang YJ (1997) Effect of water temperature and feeding rate on growth and feed efficiency of Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. *J Aquacult* 10:11-320.
- Park MR, Chang YJ, Kang DY (1999) Physiological response of the cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) to the sharp changes of water temperature. *J Aquacult* 12:21-228.
- Perry SF, Reid SD (1993) β -adrenergic signal transduction in fish : interactive effects of catecholamines and cortisol. *Fish Physiol Biochem* 11:95-203.
- Rao PP, Joseph KV, Rao KJ (1990) Histopathological and biochemical change in the liver of a fresh water fish exposed to heptachlor. *J Nat Conserv* 2:33-137.
- Sadler J, Wells RMG, Pankhurst PM, Pankhurst NW (2000) Blood oxygen transport, rheology and haematological responses to confinement stress in diploid and triploid Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 184:49-361.
- Sampaio LA, Bianchini A (2002) Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. *J Exp Mar Biol Ecol* 269: 187-196.
- Singh H, Singh TP (1997) Formothion and propoxur induced ionic imbalance and skeletal deformity in a catfish, *Heteropneustes fossilis*. *J Environ Biol* 18:357-363.
- Smart GR (1981) aspects of water quality producing stress in intensive fish culture. pp. 277-293 (in) *Stress and Fish*, (ed) A.D. Pickering, Academic Press, London.
- Specker CB, Bradford CS, Fitzpatrick MS, Patino R (1989) Regulation of the interrenal of fishes: Non-classical control mechanism. *Fish Physiol Biochem* 7:259-265.
- Thomas P, Robertson L (1991) Plasma cortisol and glucose stress 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.
- Tomasso JR, Simco BA, Davis KB (1983) Circulating corticosteroid and leucocyte dynamics in channel catfish during net confinement. *Texas J Sci* 35:83-88.
- Wedemeyer GA, McLeay DJ (1981) Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In *Stress and Fish* (Ed. by A.D. Pickering), Academic Press London 247-275.
- Yamawaki K, Hashimoto W, Fujii K, Koyama J, Ikeda Y, Ozaki H (1986) Hemochemical changes in carp exposed to low cadmium concentrations. *Bull Jap Soc Sci Fish* 52:459-466.
- Yanagisawa T, Hashimoto K (1984) Plasma albumins in elasmobranchs. *Bull Jap Soc Sci Fish* 1083.

(received 28 March 2010, received in revised form 10 May 2010, accepted 11 May 2010)