

먹이제한과 단기 수온하강 조건에서 넙치의 스트레스 반응과 생리학적 대사활성 변화

명정인 · 강덕영^{1,*} · 김효찬 · 이정호 · 노재구 · 김현철

육종연구센터, ¹서해수산연구소

Changes of Stress Response and Physiological Metabolic Activity of Flounder, *Paralichthys olivaceus* Following to Food Deprivation and Slow Temperature Descending by Jeong-In Myeong, Duk-Young Kang^{1,*}, Hyo-Chan Kim, Jeong-Ho Lee, Jae Koo Noh and Hyun Chul Kim (Genetics and Breeding Research Center, NFRDI, 169, Dapo-ri, Geoje 656-842, Korea; ¹West Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, 707 Eulwang, Jung-gu, Incheon 400-420, Korea)

ABSTRACT To find the preliminary environmental conditions for a short-time transport of living olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, the stress response and physiological metabolic activity of the cultured fish to feed deprivation and slow temperature descending (15.8°C → 13.3°C) were monitored for 8 days. The monitored variables were the plasma alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), glucose (GLU), total protein (TP), electrolytes (Na⁺, K⁺, Cl⁻) and thyroid hormones (TT₄, TT₃, FT₄ and FT₃). In food deprivation experiment for 8 days, we did not find any statistical change of level in AST, ALT and electrolytes (Na⁺, K⁺, Cl⁻), but found a significant decrease in TP and GLU. In thyroid hormones, the levels of four hormones in plasma were all showing a tendency to decrease. Especially, FT₄ and TT₃ were significantly decreased, indicating a withering of physiologic activity. In the temperature test, although no any significant change in AST, TP and electrolytes (Na⁺, K⁺, Cl⁻), we observed a significant decrease of ALT and GLU following to temperature descending from 15.8°C to 13.3°C ($P < 0.05$). In the levels of thyroid hormones, any significant change was not observed for experimental period. We conclude that the stress response and physiological activity of olive flounder were more influenced by feed deprivation than slow temperature descending at a transport of living fish, and plasma GLU appears to be sensitive factor to physiological metabolic activity, indicating that it could be used as a monitoring mark or index for a health inspection of the fish.

Key words : Flounder, feed deprivation, temperature descending, stress, physiological activity

서 론

횃감의 신선도를 유지하는 가장 중요한 요소 중 하나는 현지에서 수송되어 온 활어의 상태이다. 통상 우리나라의 수산물 활어 수송 방식은 화물차 물탱크를 이용해 육상으로 수산생물을 산 상태로 이동시키는 것이 대부분이며, 일부는 선박에 의한 해상 수송과 비행기에 의한 공중 수송도 행해지고 있다. 이러한 활어 수송은 어류 종묘를 수송하는

경우나 생존 여부에 따라 시장 가치가 크게 달라지는 넙치, 조피볼락, 돔, 장어 등의 어류와 새우류, 조개류를 시장에 출하하는 경우에 행하여진다. 특히 어류 수송 시 활어 배설물에 의한 수질 악화, 산소 결핍, 온도 상승 등에 의해서 활어의 신선도가 떨어지고, 어류가 폐사하기 쉽기 때문에, 수송 전에 먹이공급을 일정기간 중지하고 수온을 기준보다 낮게 유지하며(통상 15°C 전후), 산소 또는 공기를 공급하면서 수송한다. 그러나 국내에는 활어 수송에 필요한 다양한 어종별 환경조건에 대한 기준이 아직 없고, 단지 관련업에 종사하는 사람들의 경험에 의해 수송이 이루어지고 있는 실정이

*교신저자: 강덕영 Tel: 82-32-745-0711, Fax: 82-32-745-0619, E-mail: dykang@hotmail.com

다. 따라서 활어의 안정적인 수송과 상품성 유지를 위한 어종별 최적의 출하 수송조건을 과학적으로 정립해야 할 필요가 있다.

넙치 *Paralichthys olivaceus*는 지난 20년 동안 우리나라 남해안과 제주도 연안에서 가두리 또는 육상 양식장 등에서 양식을 해왔으며, 우리나라에서 가장 보편적으로 양식이 이루어지고 있는 대표 어종으로 연간 생산량은 40,925 MT/년 (2010년 어업생산통계, 통계청)으로 양식산 활어 수송 부문에서도 단연 으뜸을 자랑한다. 양식산 넙치의 출하는 대부분 육상 활어차에 의해 이루어지며, 국내의 경우 수송 시간은 통상 12시간 이내에 신속하게 이루어진다. 이때 수송은 넙치의 스트레스를 최소화하여 신선도와 생존율을 유지시켜주기 위해, 앞서 기술한 통상적인 활어 수송 방법에 따라 산지에서 소비지로 이루어진다. 즉 우리나라의 경우 넙치를 대상으로 한 출하에 필요한 예비 환경조건과 수송조건에 대한 기준은 아직까지 마련되어 있지 않다. 하지만 생육단계 동안 서식 수온 급변과 먹이섭식 제한을 경험하지 못한 양식산 넙치의 경우, 출하 수송 단계에서 적절하지 못한 수온 강화와 절식은 오히려 스트레스로 작용하여 수송 후 생존과 활어 신선도에 악영향을 끼칠 수 있다. 따라서 수송을 위한 출하 전 사양관리와 수송단계에서 최적 환경조건에 대한 자료가 필요하다.

한편 활어 수송 단계에서 사용되고 있는 인위적 섭식제어 기법은 통상적으로 어류 소화기 질병 치료 및 사료효율 증진을 위해 사용되어져 왔다 (Cook *et al.*, 2000; Gaylord and Gatlin, 2000; Gaylord *et al.*, 2001; Cho and Lee, 2002). 이 기법은 활용도가 높고 간편하여 현장에서 높은 빈도로 활용되고 있지만, 대상 어류의 생리적 특성을 이해하지 않고 사용될 경우 건강을 악화시키고, 생존율을 낮출 가능성이 높다. 그러나 국내 경우, 아직까지 어종별로 사용 용례에 따른 과학적이고 표준화된 섭식제어 기술은 마련되어 있지 않다. 인공사육 어류에 있어 먹이섭식은 사료조성 및 소화정도 (Saether and Jobling, 1999)에 영향을 받거나, 광주기 (Bolliet *et al.*, 2001) 또는 수온 (Talbot *et al.*, 1999)과 같은 환경 인자에 의해 영향을 받을 수 있다. 특히 오랜 연구를 통해 어류의 먹이섭식은 뇌의 시상하부 (hypothalamus)에 의해 조절

되는 것으로 알려져 왔다 (Peter and Crim, 1979; Demski and Northcutt, 1983). 시상하부 하엽 (hypothalamic inferior lobe)은 말초신경계에서 전달되는 감각정보를 수용하고, 먹이섭식을 조절하는 통제 센터로서 작용한다 (Peter and Crim, 1979; Rink and Wullimann, 1998; Wullimann and Mueller, 2004). 이러한 섭식제한은 생존율, 성장률, 비만도, 체지방, 간중량 지수 (hepatosomatic index), 혈장 thyroxine (T_4) 및 아가미 Na^+/K^+ -adenosine triphosphatase (Na^+/K^+ -ATPase) 농도 등에 영향을 미친다 (Beckman *et al.*, 2000).

따라서 본 연구는 통상적으로 활어 수송시 사용되는 수온 범위 ($15 \pm 2^\circ C$)에서 수온을 단기간 강하하거나, 먹이 공급을 제한했을 때 넙치의 생리상태를 혈중 스트레스 반응과 대사활성 호르몬 (갑상선호르몬)의 변화를 통해 파악하고, 이 결과들을 바탕으로 어류의 스트레스와 생리활성 표지자로서 분석 인자들의 효용성을 검토하고, 더불어 현재 이용되는 활어 수송용 환경 제어법의 적정성을 생리학적 관점에서 논의해 보고자 했다.

재료 및 방법

1. 실험 조건

1) 절식 (絶食)의 영향

활어 수송을 위한 단기 절식에 따른 넙치의 생리·생화학적 상태 변화를 실험구 비교를 통해 파악해 보기 위해, 양성어 (연령 1년생, 전장 32.7 ± 1.2 cm, 체중 327.1 ± 33.6 g)를 이용해 실험을 8일간 실시하였다. 본 실험에 들어가기에 앞서 5일간 예비사육이 이루어졌으며, 이후 자연 수온 ($16.6 \pm 0.8^\circ C$) 조건에서 8일간 연속적으로 실험어를 절식시켰다. 실험은 3반복으로 혈액 샘플을 위해 3개의 수조에 각 30마리씩 수용하여 관리하였다. 수조는 500 L 원형 FRP 수조 (해수용량: 450 L)를 이용하였고, 사육수는 충분한 포기와 함께 유수식 (환수량=36회전/day)으로 제공되었다 (Table 1).

2) 완만한 수온 강하의 영향

넙치 양성어 (연령 1년생, 전장 31.4 ± 0.2 cm, 체중 299.1

Table 1. Summary of experimental conditions

Contents	Experiment	
	Food deprivation	Temperature descent
Fish size	TL 32.7 ± 1.2 cm, BW 327.1 ± 33.6 g (Yearlings)	TL 31.4 ± 0.2 cm, BW 299.1 ± 4.3 g (Yearlings)
Food intake	0 g/fish/day	5.2 ± 0.8 g/fish/day
Experiment term	8 days	
Replication	3	
Density	30 fish/tank	
Investigated variables	ALT, AST, TP, GLU, electrolyte, total T_3 & T_4 , free T_3 & T_4	
Interval on blood collection	2 days	

±4.3 g)를 이용해 8일간 임상실험을 실시하였다. 실험어는 본 사육에 들어가기 5일전 예비사육을 통해 매일 먹이공급을 하면서 실험 수조(500 L 원형 FRP 수조)에 적응시켰다. 이후 실험 수온은 통상적으로 활어 수송 시 사용되는 온도 범위에서 이루어졌다. 즉 자연수온 15.8°C에서 2일 간격으로 8일간 15.1°C→14.8°C→13.5°C→13.3°C로 인위적으로 완만하게 하강시켜 주었고, 혈액 샘플을 위해 3개의 수조에 실험어를 각 30마리씩 수용하여 관리하였다. 먹이는 상업용 넙치전용 시판사료를 이용했으며, 공급은 Lee *et al.* (2000)과 Kim *et al.* (2005)의 넙치 치어의 배합사료 적정공급 횟수를 기준으로 공급은 1일 2회, 오전 10시와 오후 4시에 이루어졌다(Table 1).

2. 생리생화학적 인자 분석

넙치의 혈중 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), glucose (GLU), total protein (TP), 전해질(Na⁺, K⁺, Cl⁻) 및 thyroid hormones (THs)를 분석하기 위해 2일 간격으로 실험구별 채혈하였다. 채혈은 실험구별 사육어를 무작위로 5마리×3반복(n=15/group)으로 잡아 2-phenoxyethanol로 1분간 마취 후, 해파린 처리 주사기를 사용하여 미부동맥에서 실시하였다. 채혈 후 어류는 별도 공간에 수용하여, 다음 샘플 시점에 반복 채혈되는 것을 피했다. 혈액은 4°C에서 5분간 방치한 뒤, 원심분리(12,000 rpm, 5분)하여 혈장을 추출하였다. 추출한 혈장을 이용해 즉시 ALT (GPT/ALP-PIII), AST, GLU, TP 및 전해질 분석을 실시하였으며, 일부는 THs 분석을 위해 분석 시까지 -70°C에서 보관하였다. 혈장 ALT (GPT/ALP-PIII), AST, GLU, TP 및 전해질은 FUJI DRI-CHEM 3500i전용 분석용 kit 슬라이드를 사용하여 FUJI DRI-CHEM 3500i (Co. Fujifilm, Japan)에서 분석하였다. 이때 사용된 ALT kit 슬라이드는 측정범위 10~1,000 µ/L의 GPT/ALP-PIII (Co. Fujifilm, Japan)을 사용하였으며, AST는 측정범위 10~1,000 µ/L의 GOT/AST-PIII (Co. Fujifilm, Japan), TP는 측정범위 2.0~11.0 g/dL의 TP-PIII (Co. Fujifilm, Japan), GLU는 측정범위 10~600 mg/dL의 GLU-PIII (Co. Fujifilm, Japan)를, 그리고 전해질은 Na⁺ 측정범위 75~250 mEq/L, K⁺ 측정범위 1.0~14.0 mEq/L, Cl⁻ 측정범위 50~175 mEq/L인 전용 슬라이드 Na⁺-K⁺-Cl⁻ (Co. Fujifilm, Japan)를 사용하였다.

갑상선호르몬인 혈중 total L-thyroxine (TT₄), total 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (TT₃), free L-thyroxine (FT₄) 및 free 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (FT₃) 분석은 혈장 또는 혈청 중의 THs reagent가 경쟁적으로 결합하여, solid phase의 paramagnetic particle을 형성하고, 여기에 lite reagent의 acridinium ester-labeled mouse anti-THs antibody가 결합하여 나타나는 RLU (relative light units)를 측정하는 원리를 이용하는 CLIA

(Chemiluminescent Immunoassay)에 의해 실시하였다. TT₄, TT₃, FT₄ 및 FT₃ 분석 장비와 kits는 ADVIA Centaur (Bayer, USA)을 사용하였으며, CLIA에 의한 일간변동 c.v. (interassay coefficient of variation)은 TT₄=2.98, TT₃=1.15, FT₄=2.71, FT₃=2.63이었으며, 일내변동 c.v. (intraassay coefficient of variation)은 TT₄=2.04, TT₃=2.22, FT₄=3.07, FT₃=2.57이었다.

3. 통계처리

실험결과는 SPSS-PC 통계패키지를 이용하여, 비모수적 방법인 Kruskal-Wallis test에 의하여 실험구별 평균치 차이 유무를 우선 분석하였고(α=0.05), 이후 Mann-Whitney U test를 통해 사후 검증하였다. 각 실험의 대조구는 실험 개시 값으로 설정하였다.

결 과

1. 절식의 영향

절식에 따른 AST, ALT, TP, GLU 및 전해질(Na⁺, Cl⁻, K⁺)의 변화를 조사한 결과, AST는 Kruskal-Wallis test에 의해 P=0.147(χ²=8.171)로써 α=0.05에서 날짜별 유의차는 없는 것으로 확인되었으며, ALT의 경우도 다소 상승하는 패턴을 지니고 있었으나 P=0.076(χ²=9.959)로 날짜별 차이를 나타내지 않았다. 그러나 TP는 P=0.015(χ²=14.082)로 4일부터 유의하게 감소하는 경향을 보였다(P<0.05). GLU 역시 P=0.018(χ²=13.710)로서 실험 4일째부터 절식 기간이 길어짐에 따라 혈중 농도가 유의하게 감소하는 것을 알 수 있었다(P<0.05). 전해질의 경우 절식에 따른 일자별 변동이 없었다(Table 2).

혈중 갑상선호르몬 농도의 경우, TT₄의 경우 6일째 이르러 약 0.2 µg/dL로 다소 감소하는 경향을 보였지만, 유의수준 P=0.05 수준에서 Kruskal-Wallis test를 실시한 결과 유의확률 P=0.420로 절식 기간에 따른 혈중 호르몬 변동은 없는 것으로 확인되었다. TT₃는 전반적으로 절식 일자와 호르몬의 농도는 역상의 경향을 보이고, Mann-Whitney U test를 통해 0일과 8일 사이 농도는 유의적 차이를 보였지만, Kruskal-Wallis test에서 P=0.214로 절식 기간에 따른 농도의 유의한 변화는 없는 것으로 보인다(P>0.05). 그러나 FT₄의 경우는 Kruskal-Wallis test에서 P=0.050으로 전체적으로 절식 기간이 호르몬 농도에 영향을 미친다는 사실을 확인할 수 있었고, Mann-Whitney U test를 통한 사후검증에서 4~8일 사이 농도가 개시에 비해 유의하게 낮다는 사실을 확인할 수 있었다(P<0.05). 하지만 FT₃의 경우 P=

Table 2. Changes of AST, ALT, TP, GLU, Na⁺, K⁺ and Cl⁻ in blood of yearling flounder after food deprivation (n=15; α=0.05)

Variables	0 day	2 day	4 day	6 day	8 day	χ ²	P-values ¹
AST (μ/L)	13.0±0.8	10.8±1.3	18.4±3.8	10.8±1.5	10.4±1.2	8.171	0.147
ALT (μ/L)	4.6±0.4	6.2±0.4	7.4±0.6	5.8±0.4	6.0±0.3	9.959	0.076
TP (g/dL)	3.8±0.2	4.0±0.1	3.7±0.1*	3.7±0.1	3.2±0.2*	14.082	0.015 ²
GLU (mg/dL)	27.8±6.9	22.0±4.3	13.6±1.3* [¶]	13.0±0.7 [¶]	11.4±0.7 [¶]	13.710	0.018 ³
Na ⁺ (mEq/L)	173.2±3.7	171.6±1.7	169.2±1.7	169.2±1.9	174.0±2.4	5.971	0.309
K ⁺ (mEq/L)	3.6±0.3	3.5±0.1	3.5±0.1	3.7±0.1	3.4±0.3	4.865	0.433
Cl ⁻ (mEq/L)	163.2±2.0	164.2±1.9	162.0±1.8	166.0±2.8	165.0±1.7	4.671	0.457

¹Statistical significance was evaluated by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U testes.

^{2,3}The levels of TP and GLU increased with increasing of date of food deprivation (P<0.05).

*P<0.05; compared with value in previous day, [¶]P<0.05; compared with value in zero day.

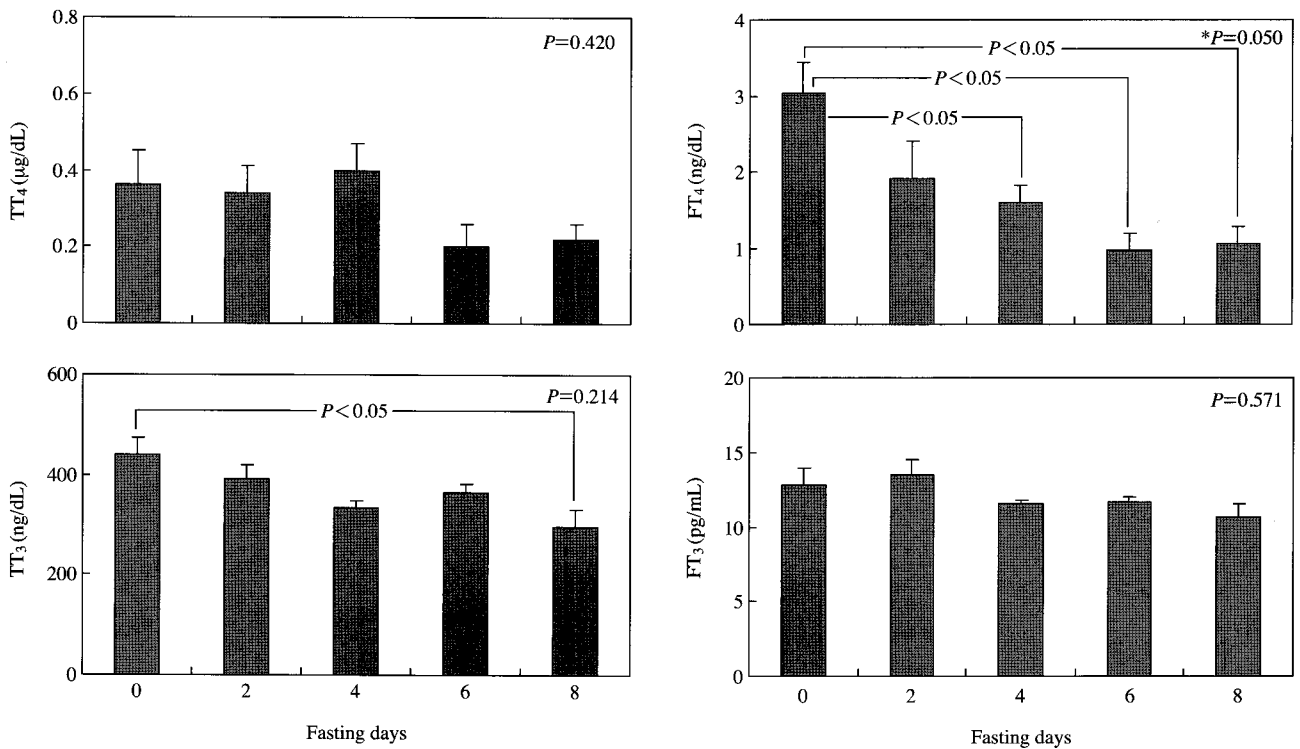


Fig. 1. Changes of TT₄ (Total T₄), TT₃ (Total T₃), FT₄ (Free T₄) and FT₃ (Free T₃) in blood of yearling flounders after food deprivation (n=15; α=0.05); Statistical significance was evaluated by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U testes. *P<0.05; compared with value in zero day.

0.571로서 절식 기간과 호르몬 농도 사이에는 연관성이 없는 것으로 확인되었다(Fig. 1).

2. 완만한 수온 강하의 영향

혈중 생화학인자와 전해질에 있어 완만한 수온 강하의 효과는 Table 3과 같다. AST는 수온이 하강할수록 다소 증가하는 경향을 보였지만, Kruskal-Wallis test에 의해 P=0.312 (χ²=4.765)로서 통계학적으로 수온 강하에 따른 농도 변화는 없는 것으로 확인되었다(P>0.05). ALT 경우 전반적으로 수온 감소에 따른 특정 패턴을 보이지 않았고, 단지 통계학적으로 4일째 P=0.028 (χ²=10.903)로서 그 농도가 개

시 점에 비해 유의하게 감소된 것을 확인할 수 있었다(P<0.05). TP는 실험기간 내내 일정한 수준을 유지하였으며 통계적으로 P=0.889 (χ²=1.134)로서 수온별 농도 차이는 존재하지 않는 것으로 확인되었다(P>0.05). 그에 반해 GLU는 P=0.005 (χ²=14.806)로서 수온별 농도 차이가 유의하게 존재하였으며, 사후검증을 통해 2일 (15.1°C)부터 유의하게 감소하는 경향을 보였다(P<0.05). 그러나 전해질의 경우 Na⁺과 Cl⁻는 큰 변화가 없었고, K⁺는 수온하강에 따라 감소하는 경향을 나타내었다.

한편 갑상선호르몬 TT₄는 15.1°C(2일)와 14.8°C(4일) 사이에 부분적인 통계적 유의차가 존재했지만, 실험구 전체적

Table 3. Changes of AST, ALT, TP, GLU, Na⁺, K⁺ and Cl⁻ in blood of yearling flounder after descending of water temperature (n=15; α=0.05)

Variables	15.8°C (0 day)	15.1°C (2 day)	14.8°C (4 day)	13.5°C (6 day)	13.3°C (8 day)	χ ²	P-values ¹
AST (μ/L)	13.4±1.3	16.6±3.8	22.4±5.6	18.4±2.5	23.8±2.7	4.765	0.312
ALT (μ/L)	6.8±0.2	7.4±0.7	5.0±0.3 ^{*,¶}	5.4±0.6 [¶]	5.8±0.8	10.903	0.028 ²
TP (g/dL)	3.8±0.2	3.8±0.2	3.8±0.2	3.9±0.2	4.0±0.1	1.134	0.889
GLU (mg/dL)	32.6±2.5	24.0±2.9 [*]	21.0±1.5 [¶]	15.6±1.2 ^{*,¶}	16.8±0.8 [¶]	14.806	0.005 ³
Na ⁺ (mEq/L)	167.0±1.3	168.0±1.5	166.4±2.8	169.0±1.4	165.2±1.5	3.203	0.524
K ⁺ (mEq/L)	3.6±0.2	3.5±0.2	3.5±0.2	3.4±0.1	3.1±0.1	6.296	0.178
Cl ⁻ (mEq/L)	160.2±1.5	162.4±1.3	158.4±2.4	161.6±1.5	158.0±1.8	3.305	0.508

¹Statistical significance was evaluated by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U testes.

^{2,3}The levels of ALT and GLU decreased with decreasing of water temperature (P<0.05).

^{*}P<0.05; compared with value in previous day, [¶]P<0.05; compared with value in zero day.

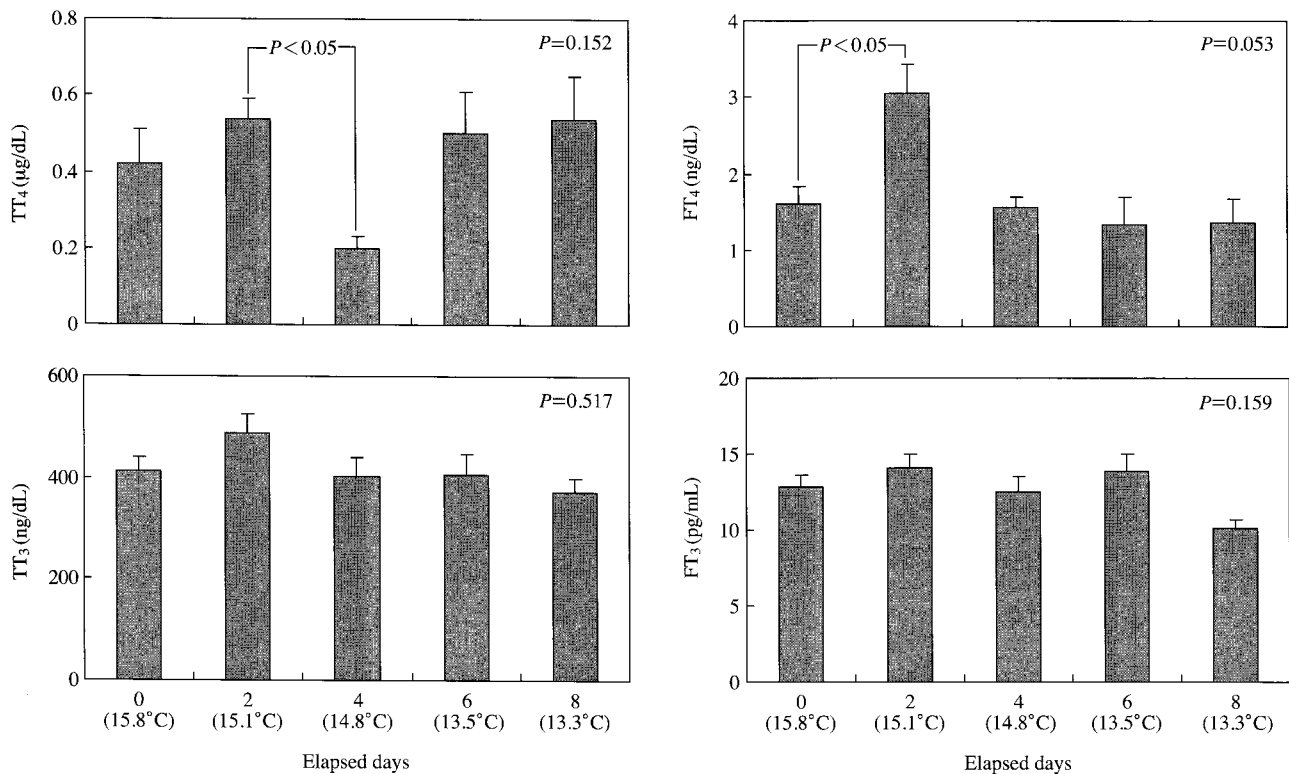


Fig. 2. Changes of TT₄ (Total T₄), TT₃ (Total T₃), FT₄ (Free T₄) and FT₃ (Free T₃) in blood of yearling flounders after descending of water temperature (n=15; α=0.05); Statistical significance was evaluated by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U testes. ^{*}P<0.05; compared with value in previous day or zero day.

으로는 Kruskal-Wallis test에 의한 P=0.152이어서 수온 강하에 따른 영향이 없는 것으로 나타났다. 그러나 Mann-Whitney U test를 통해 검증한 결과 4일 (14.8°C)에서 유의하게 감소한 뒤 6일 (13.5°C)에서 다시 유의하게 재상승하는 경향을 보였다. 또한 FT₄ 경우 15.8°C (0 day)와 15.1°C (2 day) 사이 통계적 유의차가 존재했지만, 실험구 전체 유의확률이 0.053로서 수온감소에 따른 효과는 찾아 볼 수 없었다. 그리고 나머지 TT₃와 FT₃ 역시도 유의확률이 각각 0.517과 0.159로서 수온 차이에 따른 영향은 없는 것으로 확인되었다(Fig. 2).

고 찰

본 연구는 수송단계에서 사용되고 있는 인위적 먹이제한과 온도 강하가 넙치의 생리활성에 어떻게 영향을 미치는지를 알아보고, 대사 활성 측정을 위한 혈액 지표의 유용성을 파악하기 위한 일련을 실험을 실시하였다. 이를 위해 혈중 ALT, AST, TP, GLU, electrolyte, thyroid hormones (total T₃ & T₄, free T₃ & T₄)를 중심으로 반응도를 조사하였다. 그 결과 AST는 먹이제한과 수온하강 조건에서는 둘 다 유의한 관련성을 찾아 볼 수 없었다. ALT의 경우 역시 먹이제한

및 완만한 수온 강하 조건에 따른 대사적 반응은 큰 상관이 없는 것으로 확인되었다. 그러나 TP는 비록 온도강하 조건에서는 대사량에는 큰 변동이 없는 것으로 확인되었지만, 먹이제한 상태에서 4째부터 유의하게 감소하기 시작하여 시간 경과와 함께 그 농도가 더욱 감소하는 경향을 나타내었다. 특히 GLU의 경우, 먹이공급 제한 및 수온 강하 실험 모두에서 실험 기간이 길어지면서 그 농도가 유의하게 감소하는 경향을 나타내어, 넙치의 생리활성 상태를 예측할 수 있는 하나의 지표물질로 활용 가능성을 보였다. 이 현상은 1차적으로 먹이제한 및 수온 하강에 의한 혈중 GLU농도 감소는 1차적으로 체내 생리활성 유지를 위한 에너지 유입량 감소에 의한 것으로 이해된다. 즉 먹이제한과 수온 하강에 의한 대사량 감소는 체내 에너지원 감소 또는 에너지 요구량 감소에 의해 glycogenolysis 또는 gluconeogenesis 활성이 낮아짐으로 나타난 결과로 추정된다. 또한 통상 스트레스 지표로 활용되고 있는 GLU는 스트레스 상황에서 농도 상승이 일어난다는 점에서 (Ishioka, 1980; Barton *et al.*, 1985; Robertson *et al.*, 1987; Thomas and Robertson, 1991) 본 연구의 먹이제한과 완만한 수온하락이 넙치에게 스트레스로 작용하지 않는다는 것으로 이해될 수 있다. 이는 현재 일반적으로 사용되고 있는 활어 수송을 위한 경험적 환경 조절법이 넙치의 생리상태와 건강도에 나쁜 영향을 미치지 않는다는 것을 반영한다. 그러나 전해질(Na^+ , K^+ , Cl^-)은 먹이제한과 수온하강에 따른 영향을 거의 받지 않아, 생리 활성과 전해질 간에는 상호관계 없는 것으로 생각되며, 따라서 전해질은 대사 활성 측정용 지표로는 적합하지 않다는 것으로 해석된다.

한편 갑상선호르몬의 경우, 먹이제한 조건에서 FT_4 만을 제외하고 통계적으로 다른 3가지 호르몬들에서는 먹이제한과 호르몬 농도 간에 통계학적으로 유의한 차이($P=0.050$)를 보인 것은 FT_4 한 종류에 불과하다. 그러나 전체적인 경향을 볼 때 4가지 호르몬 모두가 먹이제한 시간이 길어지면 농도가 감소하는 경향을 보였고, 특히 유의수준 0.05에서 실험 개시와 종료 시점 사이에 통계적으로 유의한 감소를 TT_3 와 FT_4 에서 확인할 수 있었다. 이러한 어류의 섭식대사와 관련되어 갑상선계의 반응은 이미 여러 연구자들 (Leatherland, 1994; Navarro and Gutierrez, 1995; MacKenzie *et al.*, 1998; Gaylord *et al.*, 2001)에 의해 기 보고된 바가 있다. Gaylord *et al.* (2001)에 의하면 차넬메기, *Ictalurus punctatus*의 “뇌하수체-갑상선 축”은 먹이공급 통제 72시간(3일) 이내에 비활성화된다는 사실을 확인한 바 있으며, 유사하게 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss* (Sweeting and Eales, 1992)와 틸라피아, *Oreochromis niloticus* (Van der Geyten *et al.*, 1998)의 경우에는 T_4 가 절식 후 24시간 이내에 감소한다는 사실을 잘 알려져 있다. 또한 간과 일부 다른 조직에 있는 outer-ring deiodinase (ORD)에 의해 prohormone인 T_4 잔기가 탈요오드화

(peripheral deiodination)에 의해 형성되는 T_3 역시, T_4 와 상호 작용을 통해 영향을 받는다 (Eales and Brown, 1993; Van der Geyten *et al.*, 1998). 절식 시간의 경과에 따른 혈중 T_3 감소는 혈중 T_4 감소에 의해 직접적으로 영향을 받을 수도 있지만, 탈요오드 효소인 ORD의 작용의 감소에 의해 T_4 농도 변화 없이도 생산이 감소되어 나타날 수도 있다. 이러한 현상은 다음과 같은 일부 연구에 의해 확인된 바 있다. 즉 Eales and Brown (1993), Leatherland (1994) 및 Van der Geyten *et al.* (1998)에 의하면 ORD 활성도는 절식과 함께 감소되며, Sweeting and Eales (1992) 및 Van der Geyten *et al.* (1998)에 의하며 먹이를 재 급여할 경우 3~7일 이내에 회복된다는 사실을 입증한 바 있다. 본 연구에서는 경향적인 차이가 있지만, T_4 와 T_3 농도가 절식기간이 길어지면서 감소하는 경향을 보였다. 특히 T_4 의 대사활성 지표인 FT_4 에서 먹이제한 시간이 길어지면서 나타나는 농도는 순차적으로 아주 뚜렷하게 감소하는 경향을 보였다. 이는 먹이제한 시간이 길어지면서 나타나는 원료적인 TT_4 감소 또는 생리대사 활성 저하에 의한 ORD 활성 감소로 인한 결과로 유추되며, TT_3 와 FT_3 경우 역시 실험 종료 농도가 개시보다 낮은 것은 그 영향인 것으로 추정된다.

한편 먹이공급 제한 실험 결과와 달리, 수온 강하 실험에서는 두 종류의 T_4 에서는 수온 변화에 따른 영향은 나타나지 않았다. 그러나 T_3 의 경우 비록 통계학적 유의차는 나타나지 않았지만, 실험 종료시 농도가 개시 농도보다는 다소 낮아지는 경향을 보였다. 이러한 경향은 가송어, *Mugil haematocheilus*를 대상으로 한 Kang *et al.* (2007)에서도 찾아볼 수 있다. 어류의 갑상선호르몬 중 T_4 의 변동성은 약하지만, T_3 의 변동성은 강해 수온의 저하에 따른 농도 역시도 저하된다는 것이 보고된 바 있다. 비록 유의적 차이를 인정받지 못했지만, 본 연구의 종료 단계에서 TT_3 와 FT_3 의 농도는 개시 단계의 농도에 비해 상대적으로 낮아졌으며, 수온하강의 효과에 의한 것일 수 있다고 본다. 그러나 Kang *et al.* (2007) 실험에서 확인된 것과 달리, 본 연구에서 수온의 효과가 극히 미미한 것은 여기에 사용된 수온이 넙치의 대사 활성을 제약하지 못하는 수준이기 때문인 것으로 추정된다. 일반적으로 넙치는 수온 10°C 이하에서 먹이섭식 활성과 대사가 급격히 감소한다고 알려져 있는 점을 고려해 볼 때, 본 연구의 수온 $15.8^\circ\text{C} \rightarrow 13.3^\circ\text{C}$ 하락은 생리대사 활성에 큰 영향을 미치기에는 못하였을 것으로 판단된다. 따라서 현재 얼음을 이용하거나, 냉각수를 이용한 넙치 활어수송에 사용되는 수온이 $13\sim 15^\circ\text{C}$ 인 점을 감안할 때 대사활성 측면에서 저수온 충격은 없었던 것으로 생각된다.

이상의 결과, 활어 수송 시 이용되는 먹이제한과 수온 강하가 넙치의 생리대사에 미치는 영향을 생리학적 관점에서 분석해 보았다. 먹이제한 실험의 경우 절식 4일 이후 TP, GLU와 갑상선계 활성이 전반적으로 동시에 저하된다는 것

을 알 수 있었으며, 이는 적어도 단기간 넙치 수송을 위해서는 먹이제한 후 3일 내에 활어 수송이 이루어지는 것이 건강도 측면에서 유리하다는 것을 보여주고 있다. 또한 정상 섭식이 이루어지는 상태에서 수온 15.8°C → 13.3°C로의 완만한 온도 강하는 GLU를 제외한 다른 혈액생리학적 인자 및 갑상선계에 영향을 미치지 않으며, 이는 현재 사용하고 있는 활어 수송 온도 조건이 건강도에도 영향을 미치지 않는다는 것을 보여주고 있다.

요 약

본 연구는 통상적으로 활어 수송을 위해 사용되는 수온 15±2°C 범위에서 단기 수온 강하와 단기간 먹이제한을 했을 때 넙치의 스트레스 반응과 생리상태를 혈중 생화학 인자와 4종류의 갑상선호르몬의 변화를 통해 파악하고, 이 결과들을 바탕으로 어류의 스트레스 및 생리활성 지표로서 분석 인자들의 효용성을 검토하고자 하였다. 먹이제한 실험은 1년생 넙치 양성어(전장 32.9±1.2 cm, 체중 348.0±34.7 g)를 이용해 8일간 실시하였고, 수온변화 실험은 1년생 양성어(전장 32.7±1.2 cm, 체중 327.1±33.6 g)를 이용해 8일간 수온을 15.8°C에서 13.3°C로 하강시키며 실시하였다. 혈중 생화학 분석 인자는 ALT, AST, TP, GLU, 전해질(Na⁺, K⁺, Cl⁻), thyroid hormones (total T₃ & T₄, free T₃ & T₄)의 혈중 변화로 이루어졌다. 먹이섭식 제한 결과, AST, ALT 및 전해질에서는 질식기간 동안 어떠한 유의한 변화를 찾아볼 수 없었지만, TP와 GLU는 유의하게 감소하는 경향을 보였다. 갑상선호르몬 농도의 경우, 조사된 4종류 모두 질식기간이 길어지면서 감소하는 경향이 있었으며, 통계적으로 FT₄와 TT₃가 개시에 비해 실험 종료시 유의하게 감소하였다. 수온하강 실험의 경우, AST, ALT, TP 및 전해질 및 갑상선호르몬 농도에서 유의한 변화는 없었으나, GLU에서는 온도하강에 따른 농도 감소가 관찰되었다(P<0.05).

사 사

본 연구과제는 2011년 경상과제-육종기술개발(국립수산과학원 과제번호 11-AQ-08)에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

인 용 문 헌

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.
 Beckman, B.R., D.A. Larsen, C. Sharpe, B. Lee-Pawlak, C.B. Schreck and W.W. Dickhoff. 2000. Physiological status of naturally reared juvenile spring chinook salmon in the Yakima River: Seasonal dynamics and changes associated with smolting. Trans. Am. Fish. Soc., 129: 727-753.
 Bolliet, V., A. Aranda and T. Boujard. 2001. Demand-feeding rhythm in rainbow trout and European catfish. Synchronisation by photoperiod and food availability. Physiol. Behav., 73: 625-633.
 Cho, S.H. and J.K. Lee. 2002. Compensatory growth in juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in the spring. J. Fish. Sci. Tech., 5: 122-126.
 Cook, J.T., A.M. Sutterlin and M.A. McNiven. 2000. Effect of food deprivation on oxygen consumption and body composition of growth-enhanced transgenic Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture, 188: 47-63.
 Demski, L.S. and R.G. Northcutt. 1983. The terminal nerve: a new chemosensory system in vertebrates? Science, 220: 435-437.
 Gaylord, T.G. and D.M. Gatlin. 2000. Assessment of compensatory growth in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and associated changes in body condition indices. J. World Aquacult. Soc., 31: 326-336.
 Gaylord, T.G., D.S. MacKenzie and D.M. Gatlin. 2001. Growth performance, body composition and plasma thyroid hormone status of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in response to short-term feed deprivation and refeeding. Fish Physiol. Biochem., 24: 73-79.
 Ishioka, H. 1980. Stress reactions in the marine fish. I. Stress reactions induced by temperature change. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 46: 523-532.
 Kang, D.Y., H.W. Kang, G.H. Kim, K.C. Jo and H.C. Kim. 2007. The effect of cold shock on the physiological responses of cultured mullet, *Mugil haematocheilus* in winter. J. Kor. Fish. Soc., 40: 226-233. (in Korean)
 Kim, K.M., K.D. Kim, S.M. Choi, K.W. Kim and Y.J. Kang. 2005. Optimum feeding frequency of extruded pellet for the growth of juvenile flounder, *Paralichthys olivaceus* during the summer season. J. Aquaculture, 18: 231-235. (in Korean)
 Leatherland, J.F. 1994. Reflections on thyroidology of fishes: from molecules to humankind. Guelph Ichthyology Reviews, 2: 1-67.
 Lee, S.-M., S.H. Cho and D.-J. Kim. 2000. Effects of feeding frequency and dietary energy level on growth and body composition of juvenile flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel). Aquacult. Res., 31: 917-921.
 MacKenzie, D.S., C.M. VanPutte and K.A. Leiner. 1998. Nutrient regulation of endocrine function in fish. Aquaculture, 161: 3-25.
 Navarro, I. and J. Gutierrez. 1995. Fasting and starvation. In: Hochachka, P.W. and T.P. Mommsen (eds.), Biochemistry and Molecular Biology of Fishes Vol. 4. Elsevier Science, Ams-

- terdam, pp. 393-434.
- Peter, R.E. and L.W. Crim. 1979. Reproductive endocrinology of Wshes: gonadal cycles and gonadotropin in teleosts. *Annu. Rev. Physiol.*, 41: 323-335.
- Rink, E. and M.F. Wullimann. 1998. Some forebrain connections of the gustatory system in the goldfish, *Carassius auratus* visualized by separate DiI application to the hypothalamic inferior lobe and the torus lateralis. *J. Comp. Neurol.*, 394: 152-170.
- 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.
- Saether, B.S. and M. Jobling. 1999. The effects of ration level on feed intake and growth, and compensatory growth after restricted feeding, in turbot *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture Res.*, 30: 647-653.
- Sweeting, R.M. and J.G. Eales. 1992. The effects of fasting and feeding on hepatic thyroxine 5-monodeiodinase activity in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Can. J. Zool.*, 70: 1516-1525.
- Talbot, C., S. Corneillie and O. Korsoen. 1999. Pattern of feed intake in four species of fish under commercial farming conditions: implications for feeding management. *Aquaculture Res.*, 30: 509-518.
- Thomas, P. and L. Robertson. 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quialdine sulfate and metomidate. *Aquaculture*, 96: 69-86.
- van der Geyten, S., K.A. Mol, W. Pluymers, E.R. Kuhn and V.M. Darras. 1998. Changes in plasma T3 during fasting/refeeding in tilapia (*Oreochromis niloticus*) are mainly regulated through changes in hepatic type II iodothyronine deiodinase. *Fish Physiol. Biochem.*, 19: 135-143.
- Wullimann, M.F. and T. Mueller. 2004. Teleostean and mammalian forebrains contrasted: evidence from genes to behavior. *J. Comp. Neurol.*, 475: 143-162.