

사육수의 pH변화가 숭어(*Mugil cephalus*)에 미치는 생리적 영향

문혜나 · 박진희¹ · 박천만 · 남궁진 · 김기혁 · 여인규*

제주대학교 해양생명과학과, ¹한화 호텔&리조트

Physiological Responses of Gray Mullet *Mugil cephalus* to Low-pH Water

Hye-Na Moon, Jin-Hee Park¹, Cheonman Park, Jin Namgung, Ki-Hyuk Kim and In-Kyu Yeo*

Department of Marine life Science, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

¹Hanwha Hotels and Resorts, Jeju 63642, Korea

We examined changes in the physiological responses of gray mullet *Mugil cephalus* exposed to acidic seawater (pH 6.0, 6.5, 7.0) and normal seawater (pH 8.0, control) for 15 days. As pH decreased, survival rate and body weight also decreased. Levels of aminotransferase, total protein and triglycerides also differed significantly with changes in pH, presumably due to stress caused by exposure to acidic water. The level of osmotic pressure was significantly higher in the pH 6.0 group than in other groups. Superoxide dismutase was significantly higher in the pH 6.5 and 7.0 groups than in the pH 8.0 group, and glutathione level was lowest in the pH 6.0 group. We conclude that decreasing the pH level of seawater induces a stress response in fish, damaging their ability to control their hematological and osmotic pressure. Antioxidant enzymes are generally sensitive to osmotic stress; in this study, antioxidant activity significantly changed with pH level. These results indicate that physiological stress induced by exposure to acidification reduces survival rates and inhibits growth in *M. cephalus*.

Key words: Ocean acidification, pH stress, Gray mullet, Physiological response, Antioxidative activity

서론

최근 지속적인 산업 발달 및 경제적 성장으로 인해 화석연료의 사용량이 증가 됨에 따라 대기 중에 방출되는 CO₂의 방출량 역시 크게 증가하고 있다(Solomon et al., 2007). 특히 화석연료의 연소에 의해 방출된 대기중의 CO₂는 해양으로 흡수되어 탄산염(carbonate) 및 중탄산염(bicarbonate)을 생성하게 되고, 해양의 수소이온농도(pH)의 감소를 유도하여 해양 산성화(ocean acidification)를 초래한다(Gattuso and Buddemeier, 2000).

일반적으로 자연상태 해수(약 35 psu)의 pH는 7.8-8.2의 범위로 일정하게 유지되며, pH가 그 이하로 내려가는 것은 극히 드물었지만, 앞서 언급 하였듯이 CO₂의 방출량 증가로 인한 기후의 변화로 인해 해양의 pH가 산성화됨에 따라 해양생태계에 큰 문제를 야기할 것으로 여겨지고 있다(Knutzen, 1981). 이에 해양 산성화는 전 세계적인 문제로서 대두되고 있으며, 2000년대 초반부터 해양 산성화가 해양 생물에 미치는 영향에 관한 연구가 급격히 증가하고 있다(Gattuso and Hansson, 2011).

수중에 서식하고 있는 해양 생물은 pH가 미미하게 변화하여

도 스트레스의 요인으로서 크게 작용하여 다양한 생리학적 영향을 야기하게 된다(Pörtner et al., 2004). 현재까지 해양 산성화가 상어(*Mustelus canis*), 연어(*Oncorhynchus gorbuscha*) 및 큰 가시고기(*Gasterosteus aculeatus*)와 같은 어종에서 성장 저하, 감각기능 손상 및 신경 전달물질 기능의 변화로 인한 행동 변화 등 다양한 장애를 유발하고, 물질수송과정에 영향을 미쳐 어류의 호흡 및 산소수송기능의 저하를 가져오는 것으로 보고되고 있다(Pörtner et al., 2004; Dixon et al., 2015; Ou et al., 2015; Lai et al., 2015). 따라서 지속적인 해양 산성화는 해양생태계의 심각한 황폐화를 초래할 수 있으므로, 해양 산성화가 해양 생물에 미치는 영향을 파악하여, 지속적으로 변화하는 지구의 해양 환경에 미리 대처하는 것이 매우 중요할 것으로 여겨진다(Arrigo, 2007). 또한 해양산성화가 해양생물에 미치는 영향은 종 또는 개체군 간의 회복능력에 따라 크게 달라질 수 있기 때문에 어종에 따른 변화 분석 역시 매우 중요하다고 할 수 있다(Pörtner, 1998). 숭어(*Mugil cephalus*)는 해수 및 담수에서 모두 사육이 가능한 어종으로서, 삼투조절 능력과 다양한 환경 변화에 대한 적응력이 뛰어난 것으로 알려져 있다. 또한 숭어는 전

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2017.0153-159>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 50(2) 153-159, April 2017

Received 11 January 2017; Revised 8 March 2017; Accepted 23 March 2017

*Corresponding author: Tel: +82. 64. 754. 3474 Fax: +82. 64. 756. 3493

E-mail address: ikyoo99@jejunu.ac.kr

세계적으로 분포하는 종으로 환경 변화에 대한 지표 실험 동물로 매우 적합한 어종으로 판단되고 있다. 본 연구는 해수의 산성화가 송어의 생리상태에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 해양 표층수의 평균 pH 8.1을 기준으로 설정한 대조군(pH 8.0)과 실험군(pH 6.0, 6.5, 7.0)에서 각각 15일간 송어를 사육한 후 생존율, 혈액생화학적 성상 및 항산화 효소 활성 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험어 및 실험조건

본 실험에서 사용한 실험어는 전남 여수시 돌산읍에 위치한 수산종묘 배양장으로부터 양식되어진 송어를 한화아쿠아플라넷으로 분양받아 실험 직전 약 2주일간의 순치 기간을 가진 후 실험에 사용하였다. 사육수조는 0.5 m × 0.5 m × 0.5 m, 250 L 용량의 일체형 수조를 이용하였으며, 실험군은 자연해수(pH 8.0)를 대조군으로 하여 pH 6.0, 6.5 및 7.0의 조건으로 설정하였다. 실험기간 동안 모든 수조는 수온 23.0°C, 염분 35.0 psu 및 용존산소(DO) 7.0 ppm을 유지하였으며, 이 때 수온은 냉각기(DP-010HL)를 사용하여 일정하게 유지하였다. 수조의 여과는 순환여과식 여과 장치를 사용하였고 사육환경의 변화 방지를 위해 별도의 여과재를 사용하지 않았으며 실험기간 동안 환수 하지 않았다. 또한 광주기는 11L:13D로 유지하여 스트레스를 최소화하였다.

실험에 사용된 해수의 pH는 10 M HCl을 이용하여 조정하였다. 실험 수조 셋팅 후, 평균 무게(100마리) 14.83 ± 3.41 g인 송어를 pH 농도에 따라 약 6시간에 걸쳐 서서히 총 4가지 조건의 실험군으로 각각 이동한 뒤, 한 실험군당 25마리씩 수용하였다. pH 조건별 사육은 15일간 실시하였으며, 사육기간 동안 먹이는 공급하지 않았다. 사육 기간 동안 pH 측정기(HACH, HQ11d pH meter)를 사용하여 3시간 간격으로 pH를 측정하였다.

체중 변화 및 생존율

해수의 pH 감소가 실험어의 체중 변화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실험 개시 전과 종료 시 체중 측정을 실시하였다. 측정 전 0.01%의 2-phenoxyethanol로 마취 한 후, 전자저울(Sartorius BP3100S)을 사용하여 측정하였다. 생존율은 1일 간격으로 각 실험구에 사망한 개체가 있는지 관찰하여 상법으로 산출하였다.

혈액성상 분석 및 삼투압 분석

15일간의 사육 후, 각 수조의 실험어를 2-phenoxyethanol로 마취한 뒤 실험어의 미부정맥에서 1 mL 주사기를 이용하여 혈액을 채취 하였다. 채취한 혈액은 2,500 rpm에서 10 min 동안 원심분리하여 상층액을 분리한 뒤 새 tube로 옮겨주었으며, 분석 전까지 -50°C에서 보관하였다. 혈액성상은 생화학분석기(VET TEST 8008)를 이용하여 aspartate aminotransferase

(AST), alanine aminotransferase (ALT), total protein (TP), triglyceride (TG), glucose (GLU) 및 phosphorus (PHOS)를 측정하였으며, 혈액 내 삼투압 측정은 삼투압 측정기(Vapor Pressure Osmometer 5600)를 이용하여 분석을 실시하였다.

항산화 활성 분석

항산화 활성 분석에는 채혈이 끝난 실험어로부터 간을 적출하여 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) 및 glutathione (GSH) 활성 분석시료로 사용하였다. SOD activity의 분석은 간 조직 0.1 g을 sigma사의 kit에 포함되어 있는 buffer로 균질화 하여 10,000 g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 이용하여 제조사의 방법에 따라 진행하였다. CAT 활성 분석은 0.1 g의 간 조직을 BioVision사의 kit에 포함되어있는 assay buffer 0.2 mL로 균질화 한 뒤 10,000 g에서 15분간 원심분리하여 얻은 상층액을 이용하여 제조사의 방법에 따른 분석을 실시하였다. GSH 활성 분석은 Dojindo에서 시판되는 kit를 이용하여 진행하였다. 각 실험어의 간 조직 0.1 g을 5% 5-sulfosalicylic acid (SSA) 0.5 mL를 첨가하여 균질화 후, 8,000 g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 이용하여 제조사의 방법에 따라 분석을 실시하였다.

통계처리

본 실험의 모든 결과는 SPSS version 21 (SPSS Inc., USA)을 활용하여 One-way ANOVA-test 로 통계 분석을 실시하였다. 데이터 값의 유의차는 Duncan's multiple test 사후분석을 실시하여 측정하였으며, $P < 0.05$ 에서 유의성을 판단하였다.

결과 및 고찰

각기 다른 농도의 pH 환경에서 송어를 15일간 사육 후 어체 무게 및 생존율의 변화를 확인하였다. 결과적으로, 15일간의 사육 실험 종료 후 초기 무게 14.83 ± 3.41 g의 실험어는 pH 6.0, pH 6.5, pH 7.0 및 pH 8.0의 농도 증가에 따라 14.54 ± 4.22 g, 14.52 ± 4.10 g, 14.74 ± 4.12 g 및 15.08 ± 3.99 g으로 나타났다(Table 1). Saunders et al. (1983)의 연구에서 대서양 연어 (*Salmo solar*) 자어를 낮은 pH 환경에 노출시킬 경우 성장률 감소 및 효소활성 저해가 보고된 바 있으며, 본 연구에서는 먹이를 공급하지 않은 상태에서의 사육으로 각 실험구간 유의적인

Table 1. Effects of low pH on survival rate (%) and final weight (g) in gray mullet *Mugil cephalus*

pH	Survival (%)	Start weight (g)	Final weight (g)
pH 6.0	48	14.83 ± 3.41	14.54 ± 4.22
pH 6.5	64	14.83 ± 3.41	14.52 ± 4.10
pH 7.0	80	14.83 ± 3.41	14.74 ± 4.12
pH 8.0	100	14.83 ± 3.41	15.08 ± 3.99

The pH 8.0 group used control.

체중 변화 차이는 나타나지 않았으나, pH농도가 저하할수록 체중이 실험 개시 전 보다 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 pH의 저하가 대사의 불균형을 야기하여 많은 에너지 소모를 유발하였기 때문에 pH가 저하할수록 체중의 감소가 나타나는 것으로 추정된다. 생존율 또한 pH가 저하할수록 낮아지는 것이 관찰되었으나(Table 1), 반복 실험을 통하여 통계학적인 평가가 이루어지지 않아 생존율과 pH의 변화에 대한 상관관계에 대해서는 추가적인 연구가 진행 되어야 할 것으로 판단되어진다. 수중의 pH 감소는 해양에서 서식하는 생물의 신진대사 및 산소수송기능의 저하를 야기하는 것으로 알려져 있다(Bonga, 1997). 또한 pH의 감소가 청보리멸(*Sillago japonica*), 참돔(*Pagrus major*)의 자치어뿐 아니라 유럽바다농어(*Dicentrarchus labrax*)의 폐사를 유도하며, 산-염기 조절에 장애를 가져오는 것으로 보고된 바 있으며(Grøttum and Sigholt, 1996; Kikkawa et al., 2003, 2004), 어류뿐 아니라 일본산 진주조개(*Pinctada fucata*) 및 굴(*Crassostrea virginica*) 등의 패류에도 성장을 및 생존율 저하를 유도하는 것으로 보고된 바 있다(Calabrese and Davis, 1966; Kuwatani and Nishii, 1969). 기존의 연구 결과와 동일하게 본 실험에서 사용한 송어의 생존율 저하 역시 pH의 저하에 따른 신진대사의 저하 및 체내 삼투압 등의 대사 조절 능력의 장애 발생 등으로 인하여 야기된 결과라고 추정된다.

어류의 혈액은 생리상태의 변화를 파악할 수 있는 요인으로 생리활성 평가의 지표로서 사용된다(Chen et al., 2004). 그 중 aspartate amino transferase (AST)와 alanine amino transferase (ALT)는 간세포 손상이나 장애를 암시하는 효소로서, 본 연구에서 AST를 측정된 결과 pH의 농도가 저하할수록 그 수치가 유의적으로 감소하는 것으로 확인되었다(Table 2, $P<0.05$). 특히 pH 6.0 실험군의 AST값은 30.67 ± 8.76 U/L로 나타나 일반적인 자연해수 pH에서 사육한 pH 8.0 실험군의 90.80 ± 58.71 U/L에 비해 유의적으로 낮은 경향을 나타냈다($P<0.05$). ALT의 경우에는 본 실험의 결과 각 실험군간 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Table 2, $P>0.05$). 일반적으로 어체의 생리상태가 좋지 않을수록 간의 장애가 일어나고 혈액 내의 AST·ALT의 활성이 높아지는 것으로 알려졌으나 심각한 간세포의 괴사가

나타났을 때에는 영양학적 효소가 감소되는 것으로 보고되고 있다(Molander et al., 1955). 본 연구의 결과에서 나타난 AST의 급격한 감소는 일반적인 간 기능 장애에서 나타나는 생리학적 변화와는 다른 결과로, pH의 저하로 인해 심각한 간 기능의 저하 시에 나타나는 급격한 감소 현상이 나타났다. McDonald and Wood(1981)에 따르면, 무지개 송어(*Oncorhynchus mykiss*)를 낮은 pH에 노출시키면 혈중 내 Na^+ 과 Cl^- 의 농도가 저하되어 아가미와 신장의 ATPase활성이 증가하고 이에 따라 Na^+/H^+ exchange가 활성화되어 산혈증(acidosis)을 유발시키는 것으로 보고하고 있다. 본 연구에서 혈중의 산성화가 효소의 생합성 및 전자 전달계 대사 과정에 영향을 미쳐 AST의 비특이적인 급격한 감소 반응이 유발되었을 가능성이 있으므로 이와 관련한 영양 대사학적인 검토가 추가적으로 이루어져야 할 것으로 판단된다. 간 조직의 손상여부 지표로서 사용되는 total protein (TP) 측정 결과, AST결과와 마찬가지로 pH가 저하함에 따라 수치가 감소하는 경향을 나타내었다(Table 2, $P<0.05$). TP 또한 간 조직의 손상여부 지표로서 활용되어지며, 환경 스트레스를 받은 어류는 간의 손상 및 세뇨관의 재흡수 장애로 인해 혈청 내 TP가 감소하는 경향을 나타내는 것으로 보고되어 있다(Doney et al., 2009), 본 연구의 결과에서도 pH의 저하가 간 기능저하나 세뇨관의 재흡수의 장애를 통한 삼투압 조절 이상으로 TP의 수치가 감소했을 가능성이 있는 것으로 여겨진다. Triglyceride (TG)는 pH 6.0 실험군에서 대조군에 비해 유의적으로 낮은 수치를 나타내었으며, glucose 및 phosphorus는 각 실험군간 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Table 2, $P>0.05$). TG는 수온, 성별, 생식 주기 및 먹이 등에 의해 변화하는 것으로 알려져 있다(Lie et al., 1988). 본 실험에서의 TG 측정 결과 pH 6.0 실험군에서 14.20 ± 10.89 mg/dL로 나타나 다른 실험군에 비해 낮은 경향을 나타내었는데, 이는 낮은 pH의 변화에 의한 스트레스 작용으로 에너지 소모가 유발된 결과로 추정된다(Table 2, $P<0.05$). 환경적인 요인에 의해 스트레스가 야기된 어류는 체내 항상성을 유지하기 위해 많은 에너지가 요구되어지며, 에너지를 필요 이상으로 소모하게 된다(Schreck, 1982). 본 실험결과 pH 저하가 송어에 있어서 스트레스 요인으로 작용한 것으로 판단되나 추후 cortisol과 같은 스트레스 관련 호

Table 2. Effects of low pH levels on the change of blood chemical content in gray mullet *Mugil cephalus*

Parameters	pH 6.0	pH 6.5	pH 7.0	pH 8.0
AST (U/L)	30.67± 8.74 ^a	40.20±14.60 ^{ab}	75.00±37.53 ^{ab}	90.80±58.71 ^b
ALT (U/L)	11.00± 1.41	11.25± 2.82	13.22± 5.33	13.33± 2.87
TP (g/dL)	1.20± 0.40 ^a	1.74± 0.67 ^{ab}	2.09± 0.81 ^b	1.93± 0.86 ^{ab}
TG (mg/dL)	14.20±10.89 ^a	28.29±13.71 ^{ab}	32.13±13.34 ^b	26.68±15.50 ^{ab}
GLU (mg/dL)	21.00± 4.00	22.38± 5.32	24.00± 6.67	22.89± 7.39
PHOS (mg/dL)	11.88± 1.95	13.40± 1.32	14.28± 2.13	11.99± 2.93

The pH 8.0 group used control. Data are expressed as mean±SD. Different letters indicate significant difference between the group ($P<0.05$). AST, aspartate amino transferase; ALT, alanine amino transferase; TP, total protein; TG, triglyceride; GLU, glucose; PHOS, phosphorus.

르몬의 분석을 통해 명확히 파악해야 할 것으로 여겨진다. 삼투압 측정 결과는 Fig. 1에 나타내었으며, 그 결과 pH 6.0 실험군에서 358.88 ± 0.89 mOsm/L로 나타나 다른 실험군에 비해 높은 경향을 나타내었다. 일반적으로 해산어류의 혈장 내 삼투압은 280-330 mOsm/L로 알려졌으나(Kim et al., 2011), pH 6.0, pH 6.5, pH 7.0 및 pH 8.0 실험군에서 각각 358.88 ± 0.89 mOsm/L, 316.13 ± 1.85 mOsm/L, 312.90 ± 2.40 mOsm/L 및 309.60 ± 5.26 mOsm/L로 나타나 pH 6.0 실험군에서만 정상적인 삼투압 수치에서 상당히 벗어난 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1, $P < 0.05$). 은연어(*Onchorhynchus kisutch*)를 해수에서 사육 할 경우 저장성 환경에서 원활한 삼투조절 기능이 저해되어 체내의 삼투압이 증가하게 되는데, 이는 pH의 산성화가 아가미에서의 이온 수송을 저해하여 어류의 식도에서 유입된 이온화 물질이 원활히 제거되지 못하기 때문으로서 이에 따라 대사 항상성 유지를 위해 과도한 에너지를 소모하게 되어 성장 억제 및 생존을 저하 등을 유발하는 것으로 알려졌다(Young et al., 1989). 또한 ArasHisar et al. (2004)에 의하면, 암모니아에 의해 수조의 pH가 저하하면 이온, 삼투압 및 산-염기 균형을 조절을 하는 carbonic anhydrase (CA) 효소 활성의 저하가 나타나는 것으로 보고하였으며, 이는 결국 대사성 산증을 일으키는 중요한 생리학적 변화를 일으킬 수 있다고 보고되었다(Hannedoche et al., 1991). 본 연구에서도 낮은 pH 농도인 pH 6.0의 실험군에서 삼투압의 이상 증가 현상이 나타났으며, AST의 효소 활성에 있어서도 비특이적인 반응을 나타냄으로서 생존율 및 혈액 내의 생리 대사 물질 농도의 저하를 유발하는 것으로 추정된다.

한편, 각종 물리적, 화학적 및 환경적 요인에 의해 스트레스를 받을 경우 생성되는 활성산소(oxygen free radical)는 여러 가지 질병을 유발하는 원인으로서, 활성산소를 제거하기 위

한 방어기구로 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT)와 같은 항산화 효소 및 glutathione (GSH)과 같은 항산화 물질이 존재한다(Dalton et al., 1993). 이러한 항산화 효소는 어류의 종(species) 및 계절에 따라 활성이 변화하는 것으로 알려져 있다(Aksnes and Njaa, 1981; Gabryelak et al., 1983). 본 연구에서는 pH 저하에 따른 스트레스 반응을 관찰하기 위하여 SOD, CAT 및 GSH를 각각 분석하였다. 그 결과, pH 농도 사육에 따른 어류 간에서의 SOD 활성은 각 실험군 별로 pH 6.0에서 93.64 ± 3.97 U/mL, pH 6.5에서 102.18 ± 0.89 U/mL, pH 7.0에서 97.58 ± 1.54 U/mL 및 pH 8.0에서 91.40 ± 4.20 U/mL로 나타나 pH 6.5 및 pH 7.0 실험군에서 SOD 활성이 현저하게 높은 수치를 나타내었다(Fig. 2, $P < 0.05$). 그러나 CAT 활성의 경우에는 pH 6.0에서 0.12 ± 0.04 mU/mL, pH 6.5에서 0.08 ± 0.03 mU/mL, pH 7.0에서 0.03 ± 0.03 mU/mL 및 pH 8.0에서 1.08 ± 0.55 mU/mL로 각각 나타나 일반적인 해수의 pH인 pH 8.0 실험군을 제외한 나머지 실험군에서 모두 활성이 급격히 낮은 수치를 나타내었다(Fig. 3, $P < 0.05$). 항산화 효소인 SOD는 체내에서 발생한 superoxide radical (O_2^-)을 H_2O_2 와 O_2 ($2O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)로 치환시키고, 이 치환된 H_2O_2 를 CAT가 체내에 무해한 인자인 O_2 와 H_2O ($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$)로 분해하여 활성산소의 유해성을 저해시킨다(Forman and Fridovich, 1973). 이러한 항산화 효소 활성은 스트레스를 받은 직후부터 효소활성이 크게 증가한 후, 지속적으로 낮아지는 것으로 보고되어진 바 있다(Parihar et al., 1996, 1997). 기존 연구에 의하면 환경 스트레스를 받은 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에서 초기 SOD 및 CAT의 활성이 크게 증가하였지만, 어체 내 생리학적 방어기작의 한계에 도달하거나 심각한 산화 스트레스를 받은 어종의 경우 보상 메커니즘의 손실로 인해 항산화 효소 활성이 정상수치보다 오히려 억제되는 것으로 보고되고 있다(Win-

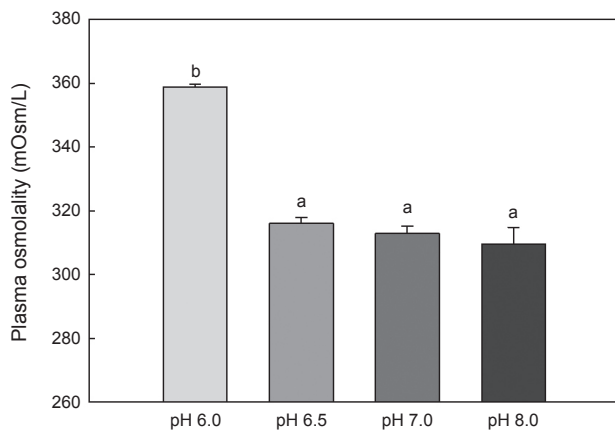


Fig. 1. Changes in plasma osmolality of gray mullet *Mugil cephalus* maintained to different low pH. The pH 8.0 group used control. Data are expressed as mean \pm SD. Different letters indicate significant difference between the group ($P < 0.05$).

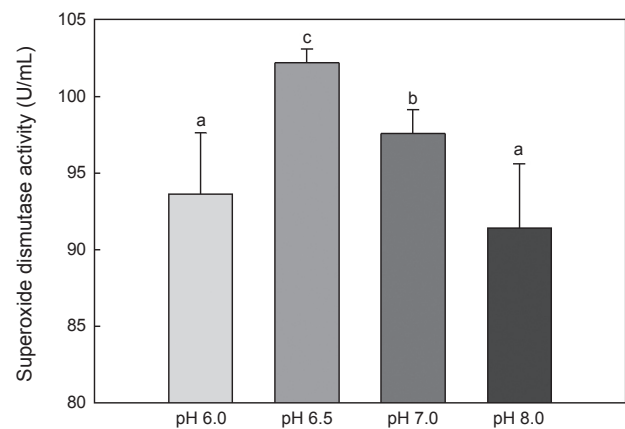


Fig. 2. Changes in superoxide dismutase activity of gray mullet *Mugil cephalus* maintained to different low pH. The pH 8.0 group used control. Data are expressed as mean \pm SD. Different letters indicate significant difference between the group ($P < 0.05$).

ston and Giulio, 1991; Zhang, 2004). 본 연구의 결과 SOD는 낮은 pH 환경 조건하에서 높은 수치를 나타내었으나 CAT는 오히려 낮은 수치를 유지하였으며, 본 연구결과와 유사하게 환경적 요인에 의해 스트레스를 받은 Spotted snakehead (*Channa punctata*)와 금붕어(*Carassius auratus*)에서도 CAT 활성이 억제되는 것이 관찰된 바 있다(Zhang et al., 2004; Kaur et al., 2005). CAT는 SOD의 작용에서 활성산소인 O₂를 H⁺이온과 반응하여 생성된 H₂O₂를 제거하는 효소로 작용하게 되는데 낮은 pH환경 조건하에서는 체내의 H⁺이온 농도가 이상적으로 증가하여 삼투조절 능력을 저해함과 동시에 체내 스트레스 작용요인으로 작용함으로써 H₂O₂의 과도한 생성으로 인하여 CAT의 고갈 현상이 유발되어 본 실험의 결과에서와 같이 낮은 CAT

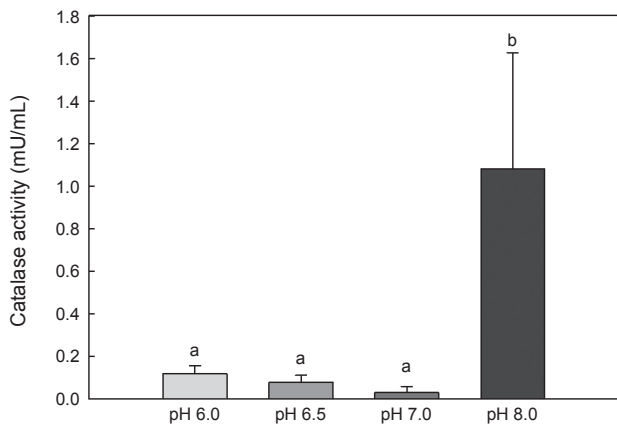


Fig. 3. Changes in catalase activity of gray mullet *Mugil cephalus* maintained to different low pH. The pH 8.0 group used control. Data are expressed as mean±SD. Different letters indicate significant difference between the group ($P<0.05$).

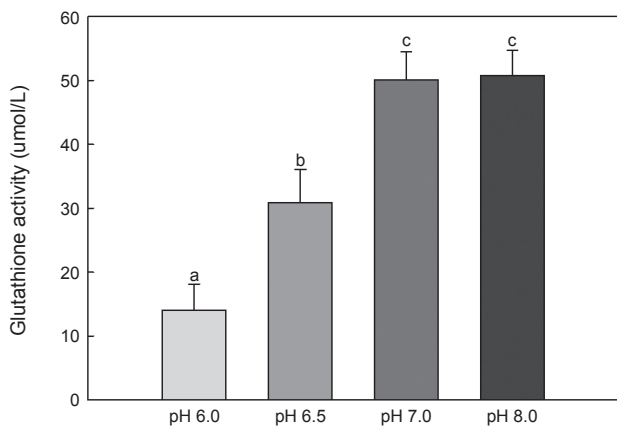


Fig. 4. Changes in glutathione activity of gray mullet *Mugil cephalus* maintained to different low pH. The pH 8.0 group used control. Data are expressed as mean±SD. Different letters indicate significant difference between the group ($P<0.05$).

농도를 나타낸 것으로 추정된다. 그러나 pH의 저하는 체내의 산소 수송능의 저해 또한 유발하는 것으로 알려져 있어(Bonga, 1997), 이러한 산소운반능력의 저해가 항산화 관련 효소의 활성 및 생성에 직접적으로 관여할 가능성이 있으므로 이에 대한 추가적인 검토가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

한편, GSH는 pH 6.0에서 14.06 ± 4.06 $\mu\text{mol/L}$, pH 6.5에서 30.94 ± 5.13 $\mu\text{mol/L}$, pH 7.0에서 50.14 ± 4.36 $\mu\text{mol/L}$ 및 pH 8.0에서 50.73 ± 4.00 $\mu\text{mol/L}$ 로 나타나 대조구에 비해 pH 6.0 및 pH 6.5에서 유의적으로 낮은 수치를 나타내었다(Fig. 4, $P<0.05$). 본 연구결과와 비슷하게 금붕어(*Carassius auratus*)가 화학적인 환경 변화 요인에 의해 스트레스를 받을 경우 GSH가 감소되어지며, 수온 스트레스를 받은 Spotted snakehead에서도 GSH의 활성의 감소가 보고된 바 있다(Zhang et al., 2004; Kaur et al., 2005). 이러한 결과는 pH의 저하가 항산화 스트레스 요인으로 작용하여 활성산소가 증가함에 따라 GSH 또한 소모됨으로써 그 효소의 활성이 pH 농도가 낮아질수록 수치가 감소 되는 것으로 판단된다. 항산화 효소는 삼투 스트레스 (osmotic stress)에 민감하게 반응하는 것으로 보고되고 있으며 (Roche and Bogé, 1996), 본 연구에서도 pH의 저하가 체내 삼투압 조절의 장애를 유발 함으로서 스트레스 요인으로 작용하여 항산화 효소 활성의 변화를 초래한 것으로 파악되어진다.

이상의 결과들을 종합하여 보면, 송어가 pH의 산성화에 노출될 경우 체내 혈액성상의 변화와 삼투압 조절 장애를 유발하고, 스트레스 작용으로 항산화 효소인 SOD, CAT 및 GSH 활성에 영향을 미칠 것으로 판단되며, 이에 따라 체내의 생리적인 스트레스를 야기 함으로서 대사 에너지의 소모를 유발하여 생존율 감소 및 성장 저해 등을 유발시킬 것으로 판단된다.

사 사

이 연구는 기상청 “기후변화 감시예측 및 국가정책지원강화”(KMIPA2015-2050)의 지원으로 수행되었습니다.

References

ArasHisar Ş, Hisar O, Yanık T and Aras SM. 2004. Inhibitory effects of ammonia and urea on gill carbonic anhydrase enzyme activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ Toxicol Pharmacol* 17, 125-128.

Arrigo KR. 2007. Carbon cycle: Marine manipulations. *Nature Reports Climate Change*, 100-101. <http://dx.doi.org/10.1038/450491a>.

Aksnes A and Njaa LR. 1981. Catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in different fish species. *Comp Biochem Physiol B* 69, 893-896. [http://dx.doi.org/10.1016/0305-0491\(81\)90402-8](http://dx.doi.org/10.1016/0305-0491(81)90402-8).

Bonga SW. 1997. The stress response in fish. *Physiol Rev* 77, 591-625.

- Calabrese A and Davis HC. 1966. The pH tolerance of embryos and larvae of *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica*. *Biological Bull* 131, 427-436. <http://dx.doi.org/10.2307/1539982>.
- Chen CY, Wooster GA and Bowser PR. 2004. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin, or copper sulfate. *Aquaculture* 239, 421-443. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.033>.
- Dalton DA, Langeberg L and Treneman NC. 1993. Correlations between the ascorbate-glutathione pathway and effectiveness in legume root nodules. *Physiol Plant* 87, 365-370. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1993.tb01743.x>.
- Dixon DL, Jennings AR, Atema J and Munday PL. 2015. Odor tracking in sharks is reduced under future ocean acidification conditions. *Glob Chang Biol* 21, 1454-1462. <http://dx.doi.org/10.1111/gcb.12678>.
- Doney SC, Fabry VJ, Feely RA and Kleypas JA. 2009. Ocean acidification: the other CO₂ problem. *Ann Rev Mar Sci* 1, 169-192. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163834>.
- Forman HJ and Fridovich I. 1973. On the stability of bovine superoxide dismutase the effects of metals. *J Biol Chem* 248, 2645-2649.
- Gabryelak T, Piatkowska M, Leyko W and Peres G. 1983. Seasonal variations in the activities of peroxide metabolism enzymes in erythrocytes of freshwater fish species. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 75, 383-385. [http://dx.doi.org/10.1016/0742-8413\(83\)90210-4](http://dx.doi.org/10.1016/0742-8413(83)90210-4).
- Gattuso JP and Buddemeier RW. 2000. Ocean biogeochemistry: calcification and CO₂. *Nature* 407, 311-313. <http://dx.doi.org/10.1038/35030280>.
- Gattuso JP and Hansson L. 2011. Ocean acidification. Oxford university press. New York, U.S.A.
- Grøttum JA and Sigholt T. 1996. Acute toxicity of carbon dioxide on European seabass (*Dicentrarchus labrax*): Mortality and effects on plasma ions. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 115, 323-327. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9629\(96\)00100-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9629(96)00100-4).
- Hannedoeche T, Lazaro M, Delgado AG, Boitard C, Lacour B and Grunfeld JP. 1991. Feedback-mediated reduction in glomerular filtration during acetazolamide infusion in insulin-dependent diabetic patients. *Clin Sci* 81, 457. <http://dx.doi.org/10.1042/cs0810457>.
- Kaur M, Atif F, Ali M, Rehman H and Raisuddin S. 2005. Heat stress-induced alterations of antioxidants in the freshwater fish *Channa punctata* Bloch. *J Fish Biol* 67, 1653-1665. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.2005.00872.x>.
- Kikkawa T, Ishimatsu A and Kita J. 2003. Acute CO₂ tolerance during the early developmental stages of four marine teleosts. *Environ Toxicol* 18, 375-382. <http://dx.doi.org/10.1002/tox.10139>.
- Kikkawa T, Kita J and Ishimatsu A. 2004. Comparison of the lethal effect of CO₂ and acidification on red sea bream (*Pagrus major*) during the early developmental stages. *Mar Pollut Bull* 48, 108-110. [http://dx.doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00367-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00367-9).
- Kim YK, Jeong JB, Lee MK, Park SI, Park MA, Choe MK and Yeo IK. 2011. Pathophysiology of olive flounder *Paralichthys olivaceus* suffering from emaciation. *J Fish Pathol* 24, 11-18. <http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2011.24.1.011>.
- Knutzen J. 1981. Effects of decreased pH on marine organisms. *Mar Pollut Bull* 12, 25-29. [http://dx.doi.org/10.1016/0025-326X\(81\)90136-3](http://dx.doi.org/10.1016/0025-326X(81)90136-3).
- Kuwatani Y and Nishii T. 1969. Effects of pH of culture water on the growth of the Japanese pearl oyster. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 35, 242-250. <http://dx.doi.org/10.2331/suisan.35.342>.
- Lai F, Jutfelt F and Nilsson GE. 2015. Altered neurotransmitter function in CO₂-exposed stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): a temperate model species for ocean acidification research. *Conserv Physiol* 3, cov018. <http://dx.doi.org/10.1093/conphys/cov018>.
- Lie Ø, Waagbø R and Sandnes K. 1988. Growth and chemical composition of adult Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed dry and silage-based diets. *Aquaculture* 69, 343-353. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(88\)90341-9](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(88)90341-9).
- McDonald DG and Wood CM. 1981. Branchial and renal acid and ion fluxes in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, at low environmental pH. *J Exp Biol* 93, 181-118.
- Molander DW, Wroblewski F and LaDue JS. 1955. Serum glutamic oxalacetic transaminase as an index of hepatocellular integrity. *J Lab Clin Med* 46, 831.
- Ou M, Hamilton TJ, Eom J, Lyall EM, Gallup J, Jiang A, Lee J, Close DA, Yun SS and Brauner CJ. 2015. Responses of pink salmon to CO₂-induced aquatic acidification. *Nat Clim Chang* 5, 950-955. <http://dx.doi.org/10.1038/nclimate2694>.
- Parihar MS, Dubey AK, Javeri T and Prakash P. 1996. Changes in lipid peroxidation, superoxide dismutase activity, ascorbic acid and phospholipid content in liver of freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* exposed to elevated temperature. *J Therm Biol* 21, 323-330. [http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4565\(96\)00016-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4565(96)00016-2).
- Parihar MS, Javeri T, Hemnani T, Dubey AK and Prakash P. 1997. Responses of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and reduced glutathione antioxidant defenses in gills of the freshwater catfish (*Heteropneustes fossilis*) to short-term elevated temperature. *J Therm Biol* 22, 151-156. [http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4565\(97\)00006-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4565(97)00006-5).
- Pörtner HO, Reipschläger A and Heisler N. 1998. Acid-base regulation, metabolism and energetics in *Sipunculus nudus* as a function of ambient carbon dioxide level. *J Exp Biol* 201, 43-55.
- Pörtner HO, Langenbuch M and Reipschläger A. 2004. Biologi-

- cal impact of elevated ocean CO₂ concentrations: lessons from animal physiology and earth history. *J Oceanogr* 60, 705-718. <http://dx.doi.org/10.1007/s10872-004-5763-0>.
- Roche H and Bogé G. 1996. Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication. *Mar Environ Res* 41, 27-43. [http://dx.doi.org/10.1016/0141-1136\(95\)00015-1](http://dx.doi.org/10.1016/0141-1136(95)00015-1).
- Saunders RL, Henderson EB, Harmon PR, Johnston CE and Eales JG. 1983. Effects of low environmental pH on smolting of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can J Fish Aquat Sci* 40, 1203-1211. <http://dx.doi.org/10.1139/f83-137>.
- Schreck CB. 1982. Stress and rearing of salmonids. *Aquaculture* 28, 241-249. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(82\)90026-6](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(82)90026-6).
- Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M and Miller HL. 2007. *Climate change 2007: The physical science basis: contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, New York, U.S.A., 97.
- Winston GW and Di Giulio RT. 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat Toxicol* 19, 137-161.
- Young G, Björnsson BT, Prunet P, Lin RJ and Bern HA. 1989. Smoltification and seawater adaptation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): plasma prolactin, growth hormone, thyroid hormones, and cortisol. *Gen Comp Endocrinol* 74, 335-345. [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-6480\(89\)80029-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-6480(89)80029-2).
- Zhang J, Shen H, Wang X, Wu J and Xue Y. 2004. Effects of chronic exposure of 2, 4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere* 55, 167-174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.10.048>.