

넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 혈액건강지표의 활동일주기와 단기절식에 따른 생리적 반응

노경언* · 김우진 · 김현철 · 박철지 · 박종원

국립수산과학원 육종연구센터

Daily Rhythms and Effect of Short-term Starvation on the of Health Parameters in Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Gyeong Eon Noh*, Woo-Jin Kim, Hyun Chul Kim, Choul-Ji Park and Jong-Won Park

Genetics and Breeding Research Center, National Institute of Fisheries Science, Geoje 53334, Korea

This study was conducted to determine the circadian rhythm and the effect of starvation for the health assessment of olive flounder *Paralichthys olivaceus*, reared under 12:12 LD (light:dark) cycle and fed 1% of their body weight once a day. The blood collection was implemented from 10 fish every 3 hours for a day, and analyzed to serval health parameters of the experimental fish. Plasma cortisol, glucose and total protein concentration reflected diel rhythms with high level of photophase and low level of scotophse despites of glutamic oxalacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvate transaminase (GPT) showing no rhythmicity, while electrolyte (sodium, potassium and chloride ion) concentrations arrived at the peak 18 hour and then slowly down. In the experiment of starvation, the result showed that there were no significant differences of the health parameters between the starved group and the fed. In short, our findings described the existence of circadian cortisol with glucose in flat fish, and indicated that the starvation does not almost affect the health of fish.

Key words: Olive flounder *Paralichthys olivaceus*, Circadian rhythm, Cortisol, Starvation, Blood parameter

서 론

어류를 포함한 대부분의 생물은 지구의 자전과 공전에 의한 계절주기, 광주기, 조석주기와 같은 환경변화에 맞춰 생체리듬을 갖고 있으며, 그 중 24시간주기의 생체리듬을 ‘활동일주기 또는 일주기리듬(circadian rhythm)’이라고 한다. 활동일주기는 내인성과 외인성으로 구분되며, 일정한 환경조건에서 내인성 리듬은 24시간을 기준으로 주기성을 갖는다. 내인성 활동일주기는 주기적인 환경변화에 맞춰 생물이 타고난 유전적 시간조절 시스템에 의해 조절되고, 호르몬, 체온, 면역, 및 소화와 같은 생리학적 기능들이 주기성을 갖게 된다(Chung et al., 2011). 활동일주기는 식물, 동물, 곰팡이류 및 남세균류에서도 나타나며 (Vitaterna et al., 2001), 금붕어, 청보리멸, 연어 및 송사리류 등과 같은 일부 어류를 대상으로 활동일주기에 대한 연구가 진행 된바 있다(Leatherland and Nuti, 1982; Weld and Meier, 1984; Bassi and Powers, 1987; Matsuyama et al., 2012). 연대생물학(chronobiology)은 인간생활에 직접적으로 연관되며, 임상

의학, 농축산학 및 양식산업에 응용될 수 있을 것이다. 특히, 양식산업은 국제적으로 식량문제의 해결방안으로서 그 중요성이 커지고 있으며, 국내 양식수산물 생산량은 150만톤 이상으로 전체 수산물 생산량의 46%를 차지하고 있다. 그 중 어류양식산업은 생산력에만 집중되어 온 결과, 주로 양식생물의 번식, 성장 및 영양 대사와 관련한 연구들이 진행되어왔기 때문에, 기초 생리학적 특성에 대한 정보는 매우 미흡한 실정이다(Alvarez et al., 2006; Lim et al., 2006; Min et al., 2010; Kim et al., 2016). 넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 국내 해수어류양식의 40%이상을 차지하고 있는 대표적인 어종으로 4만톤 이상의 대량생산이 가능해졌다. 그러나 최근에 와서 양식넙치의 폐사율이 증가하고 있으며, 그 원인으로는 양식장 환경악화, 고밀도 사육 및 급격한 환경변화 등이 문제로 제기되고 있다(Kim, 2012; Jee et al., 2014). 특히, 바닷물을 사육수로 직접 이용하는 양식현장에서는 수온이 25℃이상 증가하는 여름철에 많은 피해가 발생하고 있다. 이에 대한 해결책으로서 일정기간 사료를 공급하지 않는 절식이 현실적인 방안으로 제안되고 있다. 그러나 Iwama et

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0534>



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(5) 534-540, October 2017

Received 29 November 2016; Revised 4 February 2017; Accepted 1 September 2017

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 639. 5811 Fax: +82. 55. 639. 5834

E-mail address: genoh@korea.kr

al. (2006)에 따르면, 장기적인 절식은 어류의 영양불균형 및 스트레스 유발을 초래 할 수 있기 때문에 양식현장에서 절식의 기간에 대한 기준이 필요할 것으로 보인다.

어류의 스트레스에 대한 지표로서 혈장 코티졸(plasma cortisol)과 글루코즈(glucose)가 대표적이며, 그 외에 phosphoenolpyruvate carboxykinase, heatshock protein, NH₃, urea가 있다 (Martínez-Porchas et al., 2009). 그리고 어류의 건강도 평가지표로서 혈장 총단백질(plasma total protein), GOT (glutamic oxalacetic transaminase), GPT (glutamic pyruvate transaminase) 및 전해질(Na⁺, K⁺, Cl⁻)가 이용된다(Maita, 2007).

그 동안 넙치를 대상으로 시간경과에 따른 스트레스 반응에 대한 연구는 많이 진행되어 왔고 혈장 코티졸과 글루코즈가 스트레스 주요 지표로 이용되어 왔다. 그러나 넙치에서 혈장 코티졸과 혈장 글루코즈의 일주기듬에 대한 정보는 매우 미흡하기 때문에, 스트레스 지표로서 해석이 어려울 수 있다. 그러므로 본 연구에서는 넙치를 대상으로 어류의 건강도 지표인 혈장 코티졸, 글루코즈, GOT, GPT, 총단백질 및 전해질 농도에 대한 일주기듬을 조사하고, 고수온시 단기 절식이 넙치의 건강도에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

실험어

실험어는 국립수산물학원 육종연구센터에서 2015년에 생산한 일반넙치(32.7±1.1 cm, 409.3±45.4 g)를 이용하였다. 일주기듬 실험은 8개 그룹(9시, 12시, 15시, 18시, 21시, 0시, 3시, 6시)으로 설계하였고, 각 그룹은 FRP (fiber reinforced plastic) 1톤 원형수조에 실험어 5마리를 사육하였다. 실험에 앞서 30일간 오전 9시에 상업용 넙치사료를 어체 중의 1%씩 공급함으로써 새로 옮긴 수조에 적응시켰다. 수온, 염분 및 광주기는 각각 24.5±0.5℃, 32.5±0.5 psu 및 12:12 LD (light:dark)였다 (Table 1).

채혈 전날과 당일 절식을 시켰고, 채혈은 실험당일 3시간 간격으로 각 그룹에서 5마리씩 실시하였다. 채혈을 하는 동안 실험어의 스트레스를 최소화하기 위해서 MS-222 (Sigma, USA)

150 ppm으로 2분 이내 실험어를 마취시켰고, heparin (Sigma, USA)을 처리한 주사기(3 mL)를 이용하여 실험어의 미부혈관에서 채혈을 하였다. 혈액샘플은 1.5 mL 튜브로 옮긴 후, 4℃에서 원심분리(1,000 g, 15분)하여 상층의 혈장을 새로운 1.5 mL 튜브로 옮겼다.

절식에 따른 혈액생리학적 반응을 조사하기 위해서 이용된 실험어의 평균전장과 평균체중은 각각 33.7±3.4 cm, 436.7±153.0 g이었다. 실험어는 5개의 FRP 1톤 원형수조에 5마리씩 옮겼고 일주기듬 실험과 같은 방법으로 수조에 적응시켰다. 실험구는 실험 개시일부터 종료일까지 2주동안 절식을 시켰고, 대조구는 매일 어체 중의 1%로 사료를 공급하였다. 샘플링은 0일, 7일, 14일 10:00-11:00시에 실시하였고, 채혈 방법은 일주기듬 실험과 동일하였다(Table 1). 모든 실험은 2반복으로 실시하였다.

호르몬 분석

혈장 코티졸 분석은 Fish Cortisol ELISA Kit (Cusabio, China)의 설명서에 따라 실시하였다.

혈액생화학 분석

혈장 글루코즈, 암모니아, GOT, GPT 및 이온농도(Na⁺, K⁺, Cl⁻)는 생화학자동분석기(Dry-chem 4000i, Fujifilm, Japan)로 측정하였다.

통계분석

실험결과와 자료값은 평균±표준오차로 나타내었으며, SPSS 통계프로그램(ver. 20)을 사용하였다. 분산검정 및 정규성 검정 결과에 따라 일주기듬 실험 및 절식실험은 각각 oneway-ANOVA, 비모수 방법(Kruskall-Wallis)으로 실험구별 평균치 차이를 분석하였다. 일주기듬의 사후검정을 위해서 혈장 코티졸, 글루코즈 및 총단백질은 Dunnet's T3로 검정하였고, 혈장 Na⁺, K⁺ 및 Cl⁻는 Duncan's multiple rage test로 검정하였다.

결 과

넙치 혈장지표의 일주기듬(12:12 LD)

Table 1. Summary of experimental conditions

Contents	Daily rhythm	Food deprivation
Fish size	32.7±1.1 cm, 409.3±45.4 g	33.7±3.4 cm, 436.7±153.0 g
Food intake	1% of biomass once a day	0% of biomass during whole day
Experiment period	24 h	14 days
Density	5 fish/tank	5 fish/tank
Blood collection	every 3 hour	0, 7, 14days after the deprivation
Parameters	Cortisol, glucose, GOT, GPT, TP, Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻	

GOT, glutamic oxalacetic transaminase; GPT, glutamic pyruvate transaminase; TP, total protein.

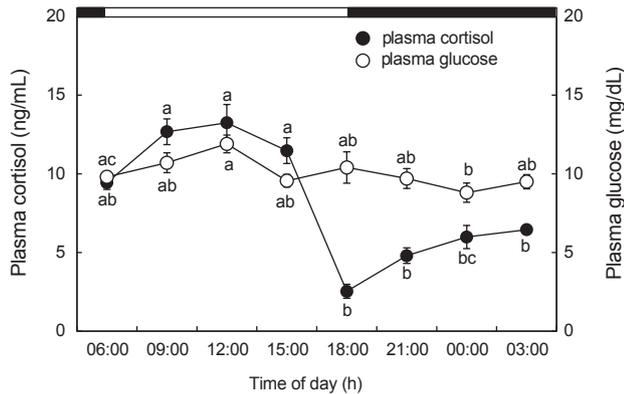


Fig. 1. Daily rhythms of plasma cortisol and glucose in olive flounder *Paralichthys olivaceus* reared under a 12:12 LD cycle. White and black bars at the tip of the graphs indicate the light and dark periods, respectively. Letters a, b, c and d indicate groups with significant statistical differences (ANOVA, Dunnett T3's test, $P<0.05$). LD, light:dark.

넙치 혈장 코티졸의 일주기들은 Fig. 1과 같다. 명기그룹 (photophase group)인 06, 09, 12 및 15시의 혈장 코티졸은 각각 9.4 ± 0.4 ng/mL, 12.7 ± 0.8 ng/mL, 13.2 ± 1.2 ng/mL 및 11.5 ± 0.8 ng/mL였고, 암기그룹(scotophase group)인 18, 21, 00, 03시의 혈장 코티졸은 각각 2.5 ± 0.4 ng/mL, 4.8 ± 0.5 ng/mL, 6.0 ± 0.7 ng/mL 및 6.4 ± 0.2 ng/mL이었다. 혈장 코티졸은 06시부터 12시까지 증가하다가 15시에 다시 감소하는 경향으로 보였으나, 그룹간 유의차는 없었다($P>0.05$). 암기에 가까워지는 18시가 되면서 혈장 코티졸 수치가 2.5 ± 0.4 ng/mL인 가장 낮은 수준으로 떨어졌고($P<0.05$) 21, 00, 03시에 다소 증가하는 경향을 보였다. 명기 그룹과 암기 그룹간의 평균 코티졸을 비교하면, 각각 11.7 ± 3.0 ng/mL, 4.9 ± 2.4 ng/mL으로서 유의한 차이가 나타났다($P<0.01$).

혈장 글루코즈의 경우, 06, 09, 12, 15시에 각각 9.8 ± 0.3 mg/dL, 10.7 ± 0.6 mg/dL, 11.9 ± 0.6 mg/dL 및 8.8 ± 0.4 mg/dL였고, 18, 21, 00, 03시의 혈장 글루코즈는 각각 10.4 ± 1.0 mg/

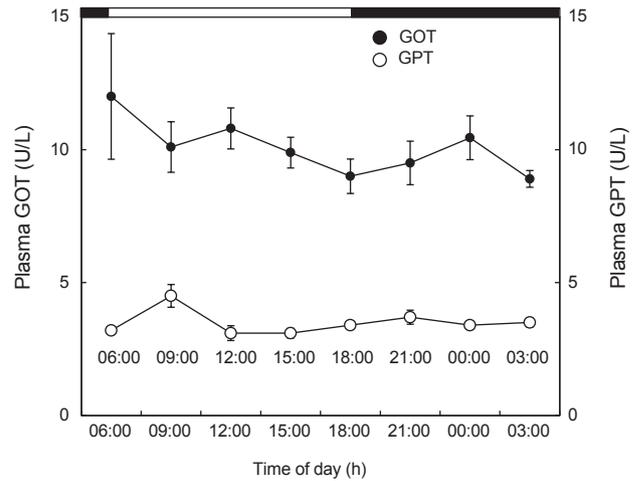


Fig. 2. Daily rhythms of plasma GOT and GPT in olive flounder *Paralichthys olivaceus* reared under a 12:12 LD cycle. White and black bars at the tip of the graphs indicate the light and dark periods, respectively. There are no significant differences in two parameters ($P>0.05$). GOT, glutamic oxalacetic transaminase; GPT, glutamic pyruvate transaminase; LD, light:dark.

dL, 9.7 ± 0.6 mg/dL, 8.8 ± 0.6 mg/dL 및 9.5 ± 0.5 mg/dL이었다(Fig. 1). 혈장 글루코즈의 최고 수치와 최저 수치는 각각 12시, 00시에 나타났고 두 그룹간 유의한 차이를 보였다($P<0.05$).

간기능 수치를 나타내는 혈장 GOT와 GPT의 평균 수치는 Fig. 2에서 보는 바와 같이, 시간경과에 따라 변화가 없었다($P>0.05$). 혈장 total protein의 경우, 06시에 2.3 ± 0.3 g/dL에서 12시에 4.1 ± 0.1 g/dL로 유의하게 증가하였으나($P<0.05$) 03시에 1.4 ± 0.1 g/dL로 감소하였다.

혈장 전해질인 Na^+ , K^+ 및 Cl^- 은 06시에 각각 112.3 ± 3.4 mEq/L, 2.1 ± 0.1 mEq/L, 98.3 ± 4.2 mEq/L에서 점차 증가하여 18시에 149.8 ± 3.6 mEq/L, 2.8 ± 0.1 mEq/L, 131.9 ± 3.3 mEq/L으로 최고 수치를 보였다. 혈장 Na^+ 는 00시에 136.2 ± 2.7 mEq/L로 유의하게 감소한 반면($P<0.05$), 혈장 K^+ 와 Cl^- 은 03시에 각각 2.7 ± 0.2 mEq/L, 121.3 ± 2.2 mEq/L로 유의차가 없

Table 2. Values of hematological parameters measured in starved and fed olive flounder *Paralichthys olivaceus* for 14 days

Group	Cortisol (ng/mL)	Glucose (mg/dL)	GOT (U/L)	GPT (U/L)	TP (g/dL)	Na^+ (mEq/L)	K^+ (mEq/L)	Cl^- (mEq/L)
F0	3.3 ± 1.0	14.8 ± 1.0	11.4 ± 0.6	1.8 ± 0.2	3.0 ± 0.2	122.4 ± 8.1	2.1 ± 0.1	106.6 ± 8.3
F7	3.9 ± 1.0	15.2 ± 1.2	11.4 ± 1.7	1.8 ± 0.2	3.1 ± 0.1	124.0 ± 3.0	2.5 ± 0.2	105.6 ± 2.4
S7	2.0 ± 0.4	15.2 ± 0.6	10.6 ± 0.9	1.2 ± 0.2	3.0 ± 0.1	125.8 ± 3.7	2.7 ± 0.1	112.4 ± 4.0
F14	3.3 ± 0.5	15.6 ± 0.2	10.0 ± 0.3	1.4 ± 0.2	3.3 ± 0.1	132.4 ± 0.9	2.6 ± 0.04	118.6 ± 1.0
S14	3.3 ± 0.4	14.4 ± 0.5	10.4 ± 0.5	2.8 ± 0.2	2.6 ± 0.1	136.6 ± 1.8	2.9 ± 0.02	125.0 ± 1.7

F, Fed group; S, starved group; GOT, glutamic oxalacetic transaminase; GPT, glutamic pyruvate transaminase; TP, total protein. each number (0, 7, 14) is the days of the sampling with the beginning of the experiment. The values are mean \pm SEM (n=5) and in each group of parameters did not significantly differ based on nonparametric statistical test ($P>0.05$).

었다($P>0.05$).

먹이공급 유무에 따른 넙치 혈장지표의 비교

Table 2에서 보는 바와 같이 2주간 절식한 실험구와 같은 조건에서 상업용 사료를 공급한 대조구의 실험 결과는 혈장 코티졸, 글루코즈, GOT, GTP, 총단백질 및 전해질(Na^+ , K^+ , Cl^-)에서 그룹간 유의적 차이가 없었다($P>0.05$).

고찰

본 연구는 넙치의 건강지표로서 혈장내 코티졸, 글루코즈, GOT, GPT, 총단백질, Na^+ , K^+ 및 Cl^- 의 일주기리듬을 조사하였다. 실험결과 일부 지표들은 시간경과에 따라 일정한 일주기리듬을 보였다.

본 실험에서 넙치의 혈장 코티졸은 명기(6, 9, 12, 15시)와 암기(18, 21, 00, 03시)간에 뚜렷한 차이를 보였다. 이와 같은 경향은 돛류, 서대류, 송어류 및 연어류와 같은 어류뿐만 아니라 인간, 설치류 및 포유류에서도 유사한 결과가 나타났다(Mohawk and Lee, 2005; Oliveira et al., 2013). 일반적으로 코티졸은 스트레스, 기초대사, 삼투압조절, 행동, 성장 및 번식과 같은 체내 에너지를 필요로 하는 다양한 생리학적 기능에 관여하기 때문에, 생물이 활동을 시작하는 시점에서 코티졸의 수치가 증가하는 경향을 보인다(Mommensen et al., 1999).

생물학적 리듬에 영향을 주는 것은 광주기, 먹이, 계절적 차이와 같은 환경적 요인과 생식소 발달단계, 연령과 같은 내적인 요인들이 있지만, 어류의 경우 먹이공급 시점과 광주기가 매우 밀접한 연관이 있는 것으로 보고 있다(Boujarad and Leatherland, 1992; Lopez-Olmeda et al., 2010). Montoya et al. (2010)은 실험실 환경에서 매일 일정한 시간에 먹이공급을 하는 것은 먹

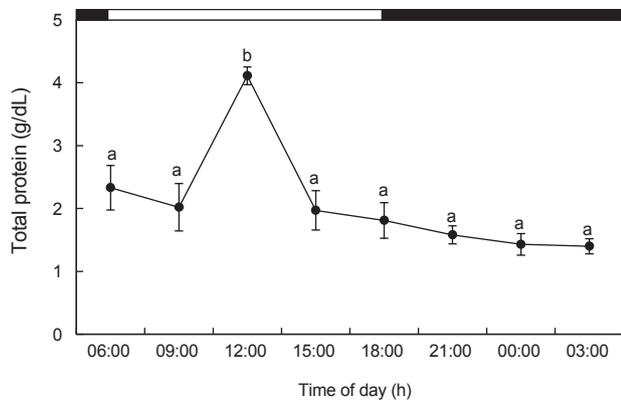


Fig. 3. Daily rhythms of plasma total protein in olive flounder *Paralichthys olivaceus* reared under a 12:12 LD cycle. White and black bars at the tip of the graphs indicate the light and dark periods, respectively. Letters a, and b indicate groups with significant statistical differences (ANOVA, Dunnett T3's test, $P<0.05$). LD, light:dark.

이공급 전에 먹이에측행동(food anticipatory activity)을 유도할 수 있다고 보고한바 있다. 붕어(*Carassius auratus*)와 돛류(*Sparus aurata*)의 경우, 12:12 LD 조건에서 혈장 코티졸의 주기는 먹이공급시간과 행동에 밀접한 연관성이 있었다(Boujarad and Leatherland, 1992; Montoya et al., 2010). 반면에, 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)의 경우, 혈장 코티졸의 일주기리듬은 광주기에 의존하는 경향을 보였다(Reddy and Leatherland, 2003).

본 실험에서는 06시부터 광주조건이 시작되었고 먹이는 09시

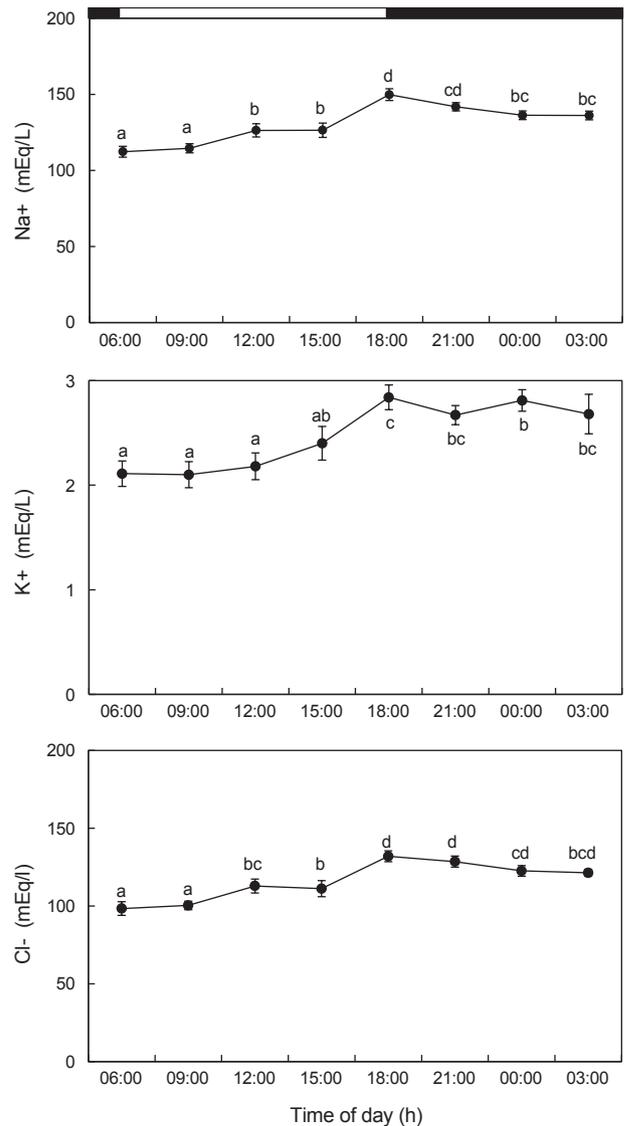


Fig. 4. Daily rhythms of plasma Na^+ , K^+ , Cl^- in olive flounder *Paralichthys olivaceus* reared under a 12:12 LD cycle. White and black bars at the tip of the graphs indicate the light and dark periods, respectively. Letters a, and b indicate groups with significant statistical differences (ANOVA, Duncan's s test, $P<0.05$). LD, light:dark.

에 공급했다. 넙치의 혈장 코티졸이 오전에 증가하여 저녁에 감소하는 원인이 광주기에 의한 것인지 먹이공급에 의한 것인지에 대해서는 결론 내릴 수 없기 때문에 이에 대한 추가 연구가 필요할 것이다.

혈장 글루코스는 12시에 정점에 도달 후 최저점까지 도달하기까지 약 10시간이 소요되어 혈장 코티졸의 유사한 패턴을 보였다. 이러한 변동의 차이는 어종, 실험 조건에 따라서 차이가 있을 것으로 예상된다. 생물이 스트레스를 받게 되면, 시상하부-뇌하수체-간신선 축(hypothalamus-pituitary-interrenal axis)에 의해 코티졸이 분비가 되며, 코티졸은 글리코겐분해와 포도당 신생과정을 활성화 시킨다. 이러한 과정을 통해 체내에 필요한 에너지를 충당하게 된다. 그렇기 때문에 혈장 코티졸과 글루코스는 대표적인 스트레스 지표로 이용된다. 스트레스가 없는 환경에서 12:12 LD 광주기로 사육한 어류의 코티졸 범위는 10-40 ng/mL였다(Pavlidis et al., 1999; Montoya et al., 2010). 반면에, 돛류(*S. aurata*)를 일시적으로 밀식환경에서 사육했을 경우 140 ng/mL 이상 증가했고, 대서양 연어(*Salmo salar*)는 은화(smoltification) 기간동안 혈장 코티졸 수치가 65-137 ng/mL였다(Pavlidis et al., 1997; Ebbesson et al., 2008). 본 연구에서 넙치의 혈장 코티졸은 최저 2.5 ± 0.4 ng/mL에서 최대 13.2 ± 1.1 ng/mL였다. 넙치의 코티졸 수치가 낮은 것은 넙치가 활동이 많은 유형성 어류와 달리 저서생활을 하기 때문에, 상대적으로 적은 에너지를 소모할 것으로 추측되며, 이러한 특징은 서대류에서도 나타났다(Oliveira et al., 2013; Kim et al., 2014). 혈장 글루코스의 경우, 유형성 어종인 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*), 돛류(*S. aurata*), 및 황돛류(*Dentex dentex*)에서 각각 64.0-85.0 mg/dL, 23.42-72.07 mg/dL, 65.76-108.10 mg/dL였던 반면, 서대류(*S. senegalensis*)에서는 13.33-27.02 mg/dL로 상대적으로 낮은 수치를 보였다. 본 실험의 결과는 넙치의 스트레스와 관련한 실험을 설계할 경우에 코티졸과 글루코스의 일주리듬을 고려해야 할 필요성이 있음을 시사한다.

혈장 코티졸과 글루코스와 함께 혈장 GOT, GPT 및 총단백질은 어류의 건강상태를 판단하는 유용한 지표이다. 특히, GOT와 GPT는 독성물질, 지질산화 및 수온상승과 같은 비정상적인 환경에서 간세포 손상 시 증가하는 것으로 알려져 있다(Maita, 2007). 본 연구에서 GOT와 GPT 수치는 그룹간 유의차이가 없었고 각 수치가 정상적인 범위에서 있었으므로(Kim et al., 2014), 본 실험이 정상적인 실험조건에서 진행된 것으로 해석할 수 있다. 그러나 총단백질은 12시에 최고치를 보였다가 이후 감소하였다. 본 실험에 앞서 매일 9시에서 10사이에 일정한 먹이공급으로 인해 실험어가 이 시간대를 기준으로 체내 생체리듬이 결정되었을 것으로 추측된다. 혈장 코티졸과 글루코스의 결과와 유사하게 총단백질 수준이 12시에 최고치를 보인 것은 본 실험에서 샘플링을 위해 거의 이틀을 절식시켰기 때문에, 9시에서 10시 사이에 먹이섭취 리듬이 깨진 실험어가 일정한 영양원과 에너지를 공급하기 위해서 10시 이후 간으로부터 총단

백질이 증가하였을 것으로 추측된다. 혈장단백질은 대부분 알부민과 글로블린으로 이루어져 있으며, 비타민, 호르몬, 구리, 철의 운반 및 생체 면역반응 등에 관여한다. 장기간 절식조건이 유지되면 간의 기능이 저하됨에 따라 총단백질 수치는 감소하게 된다. 넙치(*P. olivaceus*)를 42일동안 절식한 실험에서 절식한 실험어는 개시일에 4.5 ± 0.1 g/dL에서 종료일에 2.7 ± 0.1 g/dL로 감소한 반면, 먹이를 공급한 실험어는 4.5 ± 0.1 g/dL였다. 그렇기 때문에 어류의 혈장 총단백질은 영양적 결핍에 의해 감소될 수 있다(Maita, 2007; Kim et al., 2014).

본 연구에서 Na^+ , Cl^- 및 K^+ 은 오전 6시부터 꾸준히 증가하여 18시에 정점에 이르렀다가 저녁에 감소하는 경향을 보였다. 전해질 농도의 변화는 주로 사육수의 염분변화나 체내 삼투압 조절 능력상실 등과 같은 요인에 의해 체내 전해질 농도가 변한다. 반면, 정상적인 환경조건에서 어류의 전해질 농도는 일정하게 유지하는 경향을 보인다(Evans et al., 2005). 공기를 기질로 생활하는 육상동물과 달리 물을 기질로 하는 어류에게 삼투압 농도는 체내 삼투압을 유지하는 중요한 요소로 대부분이 무기 이온이다. 경골어류의 삼투압농도는 담수어, 해산어에 관계없이 300 mOsm/kg H_2O 정도를 유지하고 있으며, 삼투압농도의 90% 이상은 Na^+ 와 Cl^- 에 의한 것이다. 본 연구가 진행되는 동안 수온과 염분은 일정하게 유지되었고 먹이도 정상적으로 섭취하였다. 반면에 환경변화요인으로는 혈액채취를 위한 이틀간의 절식, 예상치 못한 사육수의 일시적인 변화 등이 예상된다.

어류는 스트레스의 영향을 받을 경우 삼투압 조절 능력에 혼란이 발생되기 때문에, 담수어는 혈장 이온농도가 낮아지고 해수어에서는 증가하는 경향을 보인다(Barton and Iwama, 1991). 본 연구의 Na^+ , Cl^- 및 K^+ 은 각 그룹간의 수치에서 통계학적으로 유의성으로 보였다. 그러나 대부분 어류의 Na^+ , Cl^- 농도는 어종에 따라서 각각 130-178 mEq/L, 124-161 mEq/L 수준이었기 때문에 본 실험의 이온농도는 정상 범위 내에 포함되었다고 추측된다(Evans, 2005). 그러나 본 실험에서의 이온농도 변화가 일주리듬과 관련이 있는지에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각한다.

2주간 25도의 수온에서 단기적인 절식에 따른 각 건강지표들을 비교한 결과, 대조구와 실험구간 유의적 차이는 없었다. 수온 20도 내외에서 사육한 넙치를 대상으로 장기간 절식시 혈액 성장 반응에 대하여 연구된 바 있다(Kim et al., 2014). 비록 전해질 농도에 대한 결과는 없지만, 콜레스테롤, 헤마토크리트, 헤모글로빈 등의 결과에서는 장기 절식이 넙치의 건강도에 유의한 영향을 미치지 않았다. 넙치는 주로 바닥에 붙어서 서식하는 어종이기 때문에 절식에 대한 스트레스를 유형성 어종에 비해 덜 받을 것으로 생각된다. 그러므로 고수온시 넙치양식에서 2주 정도의 절식은 현장적용이 가능한 방법으로 권장된 것으로 예상된다.

본 연구를 요약하면 넙치의 혈액 코티졸과 글루코스는 오전부터 오후까지 증가하다가 저녁이 되면서 다시 감소하는 경향을

보였다. 정상적인 수조환경에서 사육된 넙치는 활동시점에 앞서 대사를 늘이기 위해서 일정한 리듬으로 혈장 코티졸 분비를 촉진하는 것으로 보인다. 그리고 2주간의 단기적인 절식은 넙치의 건강상태에 큰 영향을 미치지 않을 것으로 예상된다.

사 사

이 논문은 2016년 국립수산물과학원 수산과학연구소 육종기술 개발 및 산업화(과제번호, R2016001)의 지원으로 수행된 연구입니다.

References

- Alvarez MDC, Pérez-Domínguez R and Tanaka M. 2006. Digestive capacity, growth and social stress in newly-metamorphosed Japanese flounder. *Environ Biol Fish* 77, 133-140. <http://dx.doi.org/10.1007/s10641-006-9065-9>.
- Bassi CJ and Powers MK. 1987. Circadian rhythm in goldfish visual sensitivity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 28, 1811-1815.
- Boujard T and Leatherland JF. 1992. Circadian rhythms and feeding time in fishes. *Environ Biol Fishes* 3, 109-131. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00002186>.
- Chung SY, Son GH and Kim KJ. 2011. Circadian rhythm of adrenal glucocorticoid: Its regulation and clinical implications. *Biochimica et Biophysica Acta* 1812, 581-591. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.02.003>.
- Ebbesson LOE, Björnsson BTH, Ekström P and Stefansson SO. 2008. Daily endocrine profiles in parr and smolt Atlantic salmon. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol A* 151, 698-704. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.08.017>.
- Evans DH, Piermarini PM and Choe KP. 2005. The multifunctional fish gill: Dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiol Rev* 85, 97-177. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00050.2003>.
- Iwama GK, Afonso LOB and Vijayan MM. 2006. Stress in Fishes. In: *The Physiology of Fishes*. CRC Press U.S.A., 319-342.
- Jee BY, Shin KW, Lee DW, Kim YJ and Lee MK. 2014. Monitoring of the mortalities and medications in the inland farms of olive flounder *Paralichthys olivaceus*, in South Korea. *J Fish Pathol* 27, 77-83. <http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2012.25.3.271>.
- Kim CS. 2012. The study of physiological approach on the root of a mass death of emaciated Olive flounder *Paralichthys olivaceus* in Jeju Island. M.S. Thesis, Jeju National University, Jeju, Korea.
- Kim JH, Jeong MH, Jun JC and Kim TI. 2014. Changes in hematological biochemical and non-specific immune parameters of olive flounder *Paralichthys olivaceus*, following starvation. *Asian-Australas J Anim Sci* 27, 1360-1367. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2014.14110>.
- Kim KD, Kim KW, Lee BJ and Han HS. 2016. Effects of water temperature and feeding rate on growth and body composition of grower olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *KSFME* 28, 611-618. <http://dx.doi.org/10.13000/JFMSE.2016.28.3.611>.
- Leatherland JF and Nuti RA. 1982. Diurnal variation in somatotrop activity and correlated changes in plasma free fatty acids and tissue lipid levels in rainbow trout *Salmo gairdneri*. *J Interdisc Cycle Res* 13, 219-228. <http://dx.doi.org/10.1080/09291018209359780>.
- Lim SJ, Lee KJ, Lee YD and Song YB. 2006. Effects of Dietary Supplementation of Cottonseed and Soybean meal on Reproductive Histology of Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 19, 133-139.
- Oliveira CCV, Aparício R, Blanco-Vives B, Chereguini O, Martín I and Sanchez-Vazquez FJ. 2013. Endocrine (plasma cortisol and glucose) and behavioral (locomotor and self-feeding activity) circadian rhythms in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) exposed to light/dark cycles or constant light. *Fish Physiol Biochem* 39, 479-487. <http://dx.doi.org/10.1007/s10695-012-9713-2>.
- Maita M. 2007. Fish health assessment. In: *Dietary supplements for the health and quality of cultured fish*. Nakagawa H, Sato M and Gatlin DM III, eds. Cabi, Oxford, UK, 10-17.
- Martínez-Porchas M, Martínez-Córdova LR and Ramos-Enriquez R. 2009. Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress?. *PANAMJAS* 4, 158-178.
- Matsuyama M, Adachi S, Nagahama Y, Maruyama K and Matsura S. 2012. Diurnal rhythm of serum steroid hormone levels in the Japanese whiting, *Sillago japonica*, a daily spawning teleost. *Fish Physiol Biochem* 8, 329-338. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00003428>.
- Min BH, Kim HC, Lee JH, Noh JK, An HS, Park CJ, Choi SJ and Myeong JI. 2010. Comparison of growth parameters in selected and unselected strains of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 43, 457-461.
- Mohawk JA and Lee TM. 2005. Restraint stress delays re-entrainment in male and female diurnal and nocturnal redheads. *J Biol Rhythms* 20, 245-256. <http://dx.doi.org/10.1177/0748730405276323>.
- Mommensen TP, Vijayan MM and Moon TW. 1999. Cortisol in teleost: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev Fish Biol Fish* 9, 211-268. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1008924418720>.
- Montoya A1, Lopez-Olmeda JF, Garayzar AB and Sanchez-Vazquez FJ. 2010. Synchronization of daily rhythms of locomotor activity and plasma glucose, cortisol and thyroid hormones to feeding in Gilthead seabream (*Sparus aurata*) under a light-dark cycle. *Physiol Behav* 4, 101-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.04.019>.
- Myeong JI, Kang DY, Kim HC, Lee JH, Noh JK and Kim HC.

2011. Changes of stress response and physiological metabolic activity of flounder, *Paralichthys olivaceus* following to food deprivation and slow temperature descending. Korean J Ichthyol, 23, 87-94.
- Pavlidis M, Berry M, Divanach P and Kentouri M. 1997. Diel pattern of haematocrit, serum metabolites, osmotic pressure, electrolytes and thyroid hormones in sea bass and sea bream. Aquacult Int 5, 237-47. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1018391418801>.
- Pavlidis M, Greenwood L, Paalavuo M, Mölsä H and Laitinen JT. 1999. The Effect of photoperiod on diel rhythms in serum melatonin, cortisol, glucose, and electrolytes in the common dentex, *Dentex dentex*. Gen Comp Endocrinol 113, 240-250. <http://dx.doi.org/10.1006/gcen.1998.7190>.
- Reddy PK and Leatherland JF. 2003. Influences of photoperiod and alternate days of feeding on plasma growth hormone and thyroid hormone levels in juvenile rainbow trout. J Fish Biol 63, 197-212. <http://dx.doi.org.libproxy1.nus.edu.sg/10.1046/j.1095-8649.2003.00144.x>.
- Vitaterna MS, Takahashi JS and Turek FW. 2001. "Overview of circadian rhythms". Alcohol Res Health 25, 85-93.
- Weld MM and Meier AH. 1984. Circadian responses of gonads and fat stores to handling of gulf killifish. Trans Amer Fish Soc 113, 521-527. [http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659\(1984\)113<521:CROGAF>2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659(1984)113<521:CROGAF>2.0.CO;2).