

수온별 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 스트레스 반응 및 산소소비 변화

박형준 · 김성연 · 양성진 · 민병화*

국립수산과학원 양식관리과

Change on Stress Responses and Oxygen Consumption of Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus* at Different Water Temperature

Hyung-Jun Park, Sung-Yeon Kim, Sung-Jin Yang, Byung-Hwa Min*

Aquaculture Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083 Korea

Corresponding Author

Byung-Hwa Min

Aquaculture Research Division, National
Institute of Fisheries Science, Busan
46083 Korea

E-mail : pkmbh@korea.kr

Received : April 07, 2017

Revised : April 10, 2017

Accepted : April 20, 2017

급격한 수온의 변화는 어류의 생리학적 측면에서 스트레스를 유발한다. 본 연구에서는 넙치(*Paralichthys olivaceus*)로부터 각 수온별(9, 12, 15, 18 및 21°C) 조건에 따라 24 및 48시간 동안 노출시킨 후에, 혈액생리학적 분석, 스트레스 단백질로 알려진 Hsp70 mRNA 발현 및 산소 소비량을 조사하였다. 혈액학적 분석에서 hematocrit (Ht) 및 hemoglobin (Hb), 혈장 코티졸 및 글루코스의 변화, aspartate aminotransferase (AST) 및 alanine aminotransferase (ALT), NH₃, 삼투질농도(osmolality) 및 총단백질(total protein, TP)은 9°C 및 12°C에서 다른 수온별 실험구에 비해 대부분의 항목에서 유의적인 차이를 보였다. Hsp70 mRNA 발현은 9°C 및 12°C에서 다른 실험구에 비해 높은 발현량을 확인하였고, 산소소비량은 9°C 및 12°C에서 21°C에 비해 낮았다. 이러한 결과는 넙치 종자의 장거리 수송을 위한 수온자료로 활용할 수 있다.

This study investigated physiological and hematological changes, expression of stress protein Hsp70 mRNA and oxygen consumption in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) after exposing the fish at different temperature conditions (9, 12, 15, 18 and 21°C) for 24 and 48 hours. Hematological parameters including hematocrit (Ht) and hemoglobin (Hb), cortisol and glucose, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), NH₃, osmolality and total protein (TP) mostly exhibited significant changes at 9 and 12°C. The expression of Hsp70 mRNA was also higher at 9 and 12°C than at other temperatures. The measured oxygen consumptions were also lower at 9 and 12°C than at 21°C. It is expected that the study results could be utilized as baseline data to control water temperature during long-distance transportation, e.g. for exporting olive flounder juveniles to overseas.

Keywords: Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*(넙치), Blood physiological response(혈액생리학적 반응), Hsp70, Oxygen consumption(산소소비량)

서론

환경적인 요인에 있어 수온의 변화는 어류에게 스트레스를 유발하고, 생리학적 활성에 영향을 미치며, 지나친 수온의 자극은 폐사를 유발하기도 한다(Cossins et al., 1995; Ellis, 2001; Bowden, 2008). 수온의 변화로 인해 1차적으로 스트레스가 발생하게 되면 시상하부 및 뇌하수체의 활성이 증가함에 따라, 혈액 내 cortisol

의 분비가 증가하게 된다(Wedemeyer and Mcleay, 1981; Perry and Reid, 1993; Chang and Hur, 1999). 2차적으로는 간세포 파괴에 의한 AST (aspartate aminotransferase) 및 ALT (alanine aminotransferase), glucose와 NH₃의 증가가 경골어류로부터 보고되어진 바 있다(Park et al., 2016; Yang et al., 2017).

또한 어류에게 수온변화로 인한 스트레스가 발생됨에 따라, 스트레스 관련 단백질로 알려진 heat shock proteins (Hsps)의 발현이

증가한다는 보고가 있다(Nolan et al., 1999; Choi et al., 2007). Hsp70은 모든 생물체에서 계통발생학적으로 잘 보존되어지고 있는 단백질이며, 주로 환경적인 변화(저산소, 수온 및 염분)와 미생물의 감염으로 인해 발현이 유도된다(Beckmann et al., 1990; Miliani et al., 2002; Srivastava, 2002). 이러한 스트레스 요인의 발생으로 인한 어류의 생리 및 생태학적 조건에 영향을 미치며, 세포 내 Hsps의 합성과 함께 다양한 생리학적 변화가 발생한다(Schlesinger et al., 1992). Hsp70은 스트레스 요인에 의한 충격으로부터 생체를 보호하기 위한 항상성(homeostasis) 유지에 중요한 역할을 수행한다(Forsyth et al., 1997; Iwama et al., 1998).

또한 생물이 소비하는 용존산소(dissolved oxygen)의 양은 생체 내 신진대사와 밀접한 관련이 있으며, 대사량의 변화를 알아보기 위한 척도로 활용되고 있다(Yang, 2017). 따라서, 안전한 활수산물의 수송 및 장거리 수송을 위해서는 대사량을 감소시켜야 함으로 수온별 산소소비량의 조사는 반드시 필요하다. 이전의 연구에 따르면 고수온 및 저수온에 따른 어류의 산소소비량 변화가 보고되어진 바 있지만(Do et al., 2016; Yang, 2017), 다양한 환경변화와 장거리 수송 시 적정환경을 구명하는데 있어 아직까지는 연구가 미흡한 실정이므로, 추후 지속적인 연구가 이루어져야 한다.

본 연구에서는 한국의 주요 해산 양식어종인 넙치로부터 수온 변화에 따른 혈액학적 반응, 산소소비량의 변화 및 Hsp70 mRNA 발현패턴을 분석함으로써 넙치의 장거리 수송기술에 있어 적정수온을 구명하는데 기초적인 자료로 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험어 및 실험조건

넙치(22.6±1.2 cm, 124.3±24.4 g)는 국립수산물과학원의 생물 사육실에서 2주 동안 유수식 1 ton 원형수조에서 상업용 사료를 급여하며 순치시켰다. 수온은 21°C를 유지하였다. 이 후, 실험어 10마리를 가온 및 냉각이 가능한 50 ℓ 사각수조에 각각 수용한 뒤, 21°C에서 1시간마다 3°C씩 낮추어 각 수온별(9, 12, 15, 18 및 21°C)로 24 및 48시간 동안 노출시켰다. 모든 실험은 2반복으로 수행하였다.

2. 혈액분석

24 및 48시간 노출 후, 모든 실험어는 150 mg/l의 tricaine methan sulphonate (MS-222, Sigma, USA)로 마취시킨 다음, heparin sodium (Sigma, USA) 처리된 1 ml syringe를 이용하여 실험어의 미부정맥으로부터 혈액을 샘플하였다. 샘플 후, 혈액의 일부를 hematocrit (Ht) 및 hemoglobin (Hb) 분석에 사용하고 나머지 혈액은 실온에서 20분간 방치한 다음 원심분리(4°C, 10,000 rpm, 15 분)하여 분석 전까지 deep-freezer (-80°C)에 보관하였다. Ht는 모

Table 1. Primers used in this study

Primer name	Sequence (5' - 3')
For qRT-PCR amplification:	
Hsp70 F	ACAAGAGAGCTGTCGTCGT
Hsp70 R	ACAGGGAGTCGATTTCGATG
β-actin F	GCAATGAGAGGTTCCGTTGT
β-actin R	TGCTGTTGTAGGTGGTCTCG

세관을 원심분리(RT, 10,000 rpm, 15분)하여 Ht-log chip (Micro-haematocrit reader, Hawksley Co, UK)을 이용하여 측정하고, Hb, 혈장 글루코스, 총 단백질(TP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) 및 NH₃는 자동 생화학 분석기(Fuji dry-chem 4000i, Fujifilm Co., Japan)로 분석하였다. 삼투질농도는 삼투압 측정기(Vapro 5520, WESCOR Co., USA)로 측정하였다. 혈장 코티졸 농도는 Fish ELISA Cortisol kit (Cusabio Biotech, China)의 방법에 따라 분석하였다.

3. Quantitative real-time PCR (q-PCR)

24 및 48시간 동안 수온별로 노출시킨 넙치의 Hsp70 mRNA 발현을 분석하기 위해 각 실험구의 넙치로부터 간 조직을 적출하여 액체질소에서 급속 동결시킨 후, -80°C에서 실험 전까지 보관하였다. Total RNA는 TRIzol Reagent (Gibco/BRL, USA)법을 이용하여, 각 시료에서 RNA를 추출한 후, 1 µg의 total RNA는 Transcriptor First Strand cDNA synthesis kit (Roche, USA)를 이용하여 cDNA를 합성하였다.

PCR 분석에 앞서, 이전에 알려진 넙치 Hsp70 nucleotide sequence (accession no. AAC33859)에 기초하여 primer를 제작하였다(Table 1). Hsp70 mRNA 발현은 CFX96™ Real-time System (Bio-Rad, USA)과 iQ™SYBR green Supermix (Bio-Rad, USA)를 이용하여 분석하였다. 대조군으로써 house-keeping gene는 넙치에서 알려진 β-actin (accession no. HQ386788)을 사용하였으며, 모든 분석값은 β-actin에 대한 cycle (Ct) level과의 차이로 계산하였다. Ct 값은 다음과 같은 식으로 결정되었다: $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Method, [$\Delta\Delta Ct = 2^{-(\Delta Ct_{sample} - \Delta Ct_{internalcontrol})}$] (Livak and Schmittgen, 2001).

4. 산소소비량 측정

수온별로 노출시킨 넙치의 호흡에 따른 산소소비량을 조사하기 위해 호흡측정 챔버(respirometry)를 사용하였고, 유입수와 유출수 간 용존산소의 농도차이를 이용하여 측정값을 구하였다. 호흡측

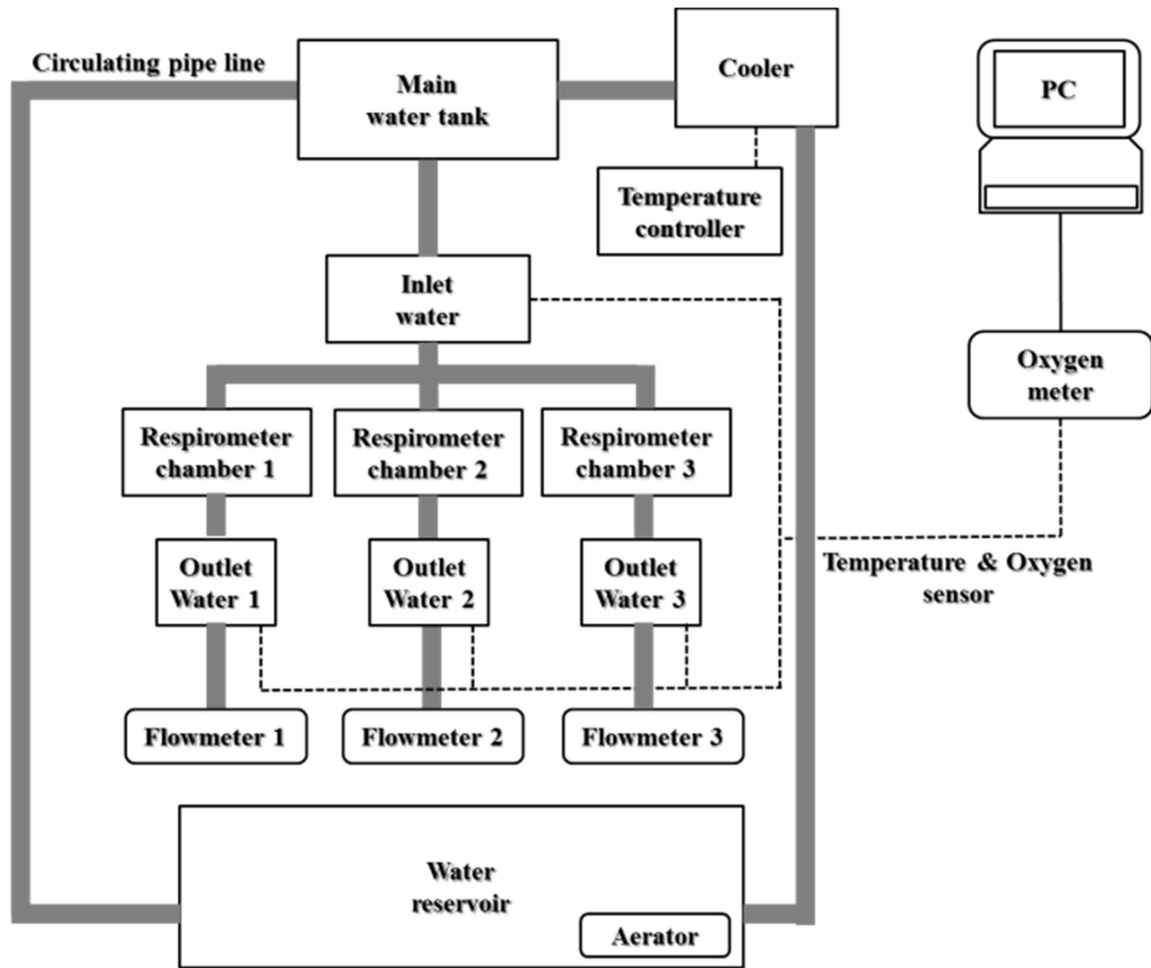


Fig. 1. The oxygen consumer device of respirometer system used in present study.

정챔버는 가로 25 cm, 세로 30 cm 및 높이 17 cm로 부피가 약 12.8 ℓ인 직육면체의 아크릴 수조로 제작되었다. 실험에 사용될 낚치는 48시간 동안 절식 후, 호흡측정챔버에 넣었으며, 각 수온 별 용존산소량은 생물호흡측정기(Oxygen Optode Sensor 3835, Aandreaa Data Instrument Inc, Norway)를 이용하였다. 10분 간격으로 24 및 48시간 동안 생물호흡측정기와 연결된 컴퓨터를 통해 Oxygen monitoring software program을 이용하여 측정된 수치를 바탕으로 산소소비량의 평균값을 구하였다. 그 식은 다음과 같으며, 호흡측정시스템은 Fig. 1에 나타내었다.

- 단위체중당 산소소비량($\text{mg O}_2/\text{kg/hr}$) = $\{ (C_i - C_o) \times F \times 60 \} / W$
- C_i = 유입수의 용존산소량(mg/l)
- C_o = 유출수의 용존산소량(mg/l)
- F = 유량(L/min)
- W = 체중(kg)

5. 통계분석

결과값은 평균 표준편차 \pm (S.E.)로 나타내었으며, 실험구별 유의차 유무는 SPSS 통계처리프로그램(version 10.0; SPSS inc, USA)에 의한 One-way ANOVA 및 Duncan's multiple range test를 실시하여 평균간의 유의성($p < 0.05$)을 검정하였다.

결 과

1. 혈액생리학적 분석

수온별로 노출시킨 낚치의 혈액생리학적 반응을 확인하였다. 코티졸 농도는 24 및 48시간 노출 후, 9°C에서 각각 22.8 ± 2.5 , 43.9 ± 9.3 ng/ml로 대조구인 21°C보다 유의하게 높은 값을 나타내었고, 글루코스의 변화도 마찬가지로 22.8 ± 2.5 , 43.9 ± 9.3 ng/ml로 다른

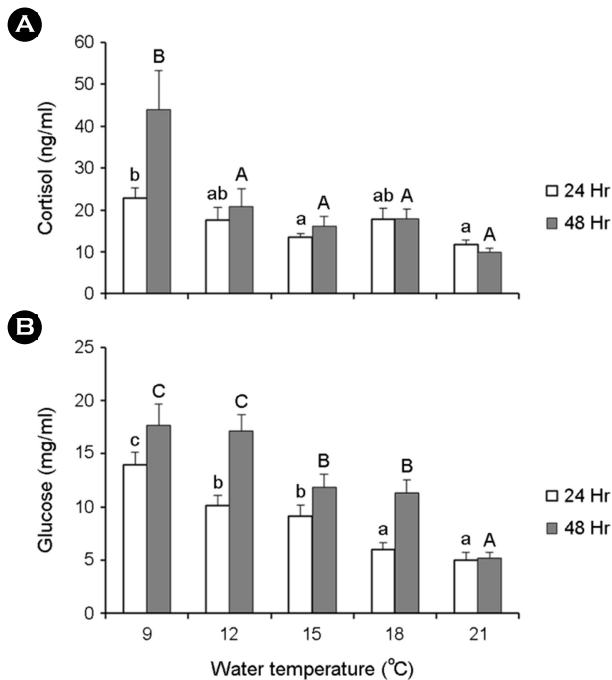


Fig. 2. Plasma cortisol (A) and glucose (B) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in different water temperature at the conclusion of this experiment. Data were expressed as mean \pm S.E. ($n=10$). Different letters denote significant difference among each group ($p < 0.05$).

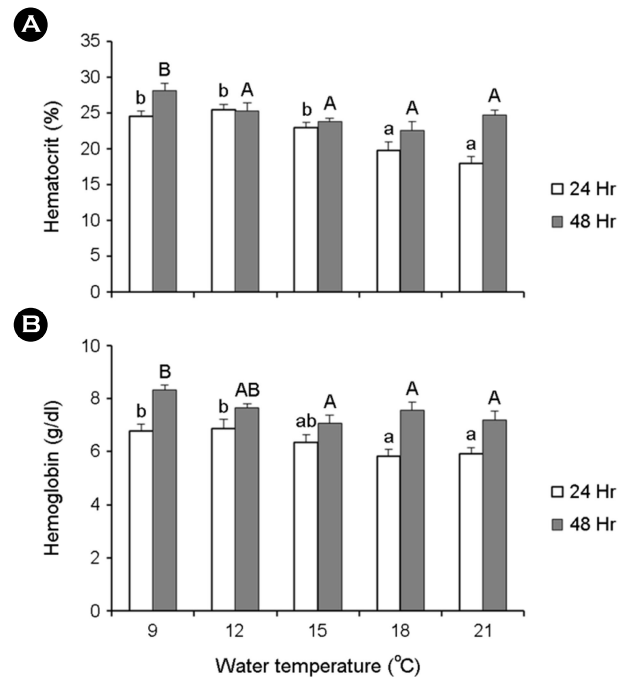


Fig. 3. Hematocrit (A) and hemoglobin (B) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in different water temperature at the conclusion of this experiment. Data were expressed as mean \pm S.E. ($n=10$). Different letters denote significant difference among each group ($p < 0.05$).

실험구에 비해 유의한 차이를 나타내었다(Fig. 2).

Ht는 24시간 노출 후, 12°C에서 $25.4 \pm 0.7\%$, 48시간 노출 후, 9°C에서 $28.2 \pm 0.9\%$ 로 다른 실험구에 비해 유의하게 차이를 보였다. 또한 Hb에서도 24시간 노출 후, 12°C에서 6.9 ± 0.4 g/dl, 48시간 노출 후, 9°C에서 8.3 ± 0.2 g/dl로 대조구인 21°C에 비해 유의한 차이를 보였다(Fig. 3).

24 및 48시간 노출 후의 AST는 9°C에서 각각 17.3 ± 2.5 및 18.8 ± 1.6 U/l로 나타났고, ALT는 24시간 노출 후에는 실험구 간의 유의한 차이를 보이지 않았지만, 48시간 노출 후의 9°C에서 6.5 ± 0.2 U/l로 대조구인 21°C에 비해 유의하게 증가하였다(Fig. 4).

총단백질, NH_3 , 삼투질농도, Na^+ , K^+ 및 Cl^- 은 Table 2에 나타내었다. 24 및 48시간 노출 후의 총단백질은 9°C에서 각각 1.6 ± 0.2 및 2.7 ± 0.1 g/dl, NH_3 는 331.8 ± 13.5 및 428.7 ± 32.3 $\mu\text{g/dl}$, 삼투질농도는 347.5 ± 5.3 및 344.7 ± 3.4 mmol/kg으로 다른 실험구에 비해 유의한 차이를 보였다. 또한 Na^+ 는 119.0 ± 4.8 및 156.8 ± 0.7 mEq/l, Cl^- 은 104.2 ± 4.8 및 146.5 ± 0.7 mEq/l로 24 및 48시간 노출 후에 9°C에서 다른 실험구에 비해 증가하였으나, K^+ 는 24시간째에는 12°C에서 1.8 ± 0.2 mEq/l, 48시간 후에는 9°C에서 2.9 ± 0.1 mEq/l로 대조구인 21°C에 비해 유의한 차이를 나타내었다.

2. Hsp70 mRNA 발현

수온변화에 따른 스트레스의 요인이 넙치의 Hsp70 mRNA 발현에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 간 조직으로부터 q-PCR법을 통해 확인하였다. 수온별 Hsp70 mRNA 발현값은 Fig. 5에 나타내었다. 각 수온별 노출 24 및 48시간 노출 후, 9°C가 대조구인 21°C보다 발현량이 유의하게 증가하였다. 24시간 및 48시간 후, 9°C는 각각 8.6 ± 1.0 , 5.3 ± 1.0 fold로 21°C의 1.2 ± 0.2 , 1.9 ± 0.2 fold보다 높은 발현능을 보였다.

3. 산소소비량 변화

수온별 넙치의 단위 체중당 산소소비량은 Fig. 6에 나타내었다. 9°C에서 28.7 ± 2.3 mg $\text{O}_2/\text{kg/h}$, 12°C에서 39.3 ± 1.5 mg $\text{O}_2/\text{kg/h}$, 15°C에서 72.1 ± 5.2 mg $\text{O}_2/\text{kg/h}$, 18°C에서 134.3 ± 3.0 mg $\text{O}_2/\text{kg/h}$, 21°C에서 119.1 ± 3.5 mg $\text{O}_2/\text{kg/h}$ 로 9 및 12°C에서 21°C에 비해 산소소비량이 유의한 차이를 보였다(Fig. 5). 평균 산소소비량은 수온이 낮아질수록 유의하게 감소하여 9°C에서 가장 감소하였다. 수온이 낮아질수록 산소소비량이 감소하는 것은 수온의 영향에 따른 것으로 나타났다.

고 찰

본 연구에서는 급격한 수온의 변화에 따라 발생하는 스트레스가 넙치에게 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위해 혈액학적 분석, Hsp70 mRNA 발현분석 및 산소소비량을 조사하였다. 수온별 모든 실험구의 넙치는 48시간 동안 전량 생존하였다.

각 수온별 넙치의 스트레스 반응에서 대조구인 21°C에 비해 9°C와 12°C에서 다른 실험구보다 유의한 차이를 보이면서, 시작 수온인 21°C에서 수온이 급격하게 낮아질수록 적응력이 떨어지는 것을 확인하였다. 혈장 코티졸과 글루코스의 변화는 어류의 스트레스에 있어 주요한 지표이다(Wedemeyer and Yasutake, 1977). 글루코스와 코티졸은 정상적인 어류가 고수온 및 저수온의 조건에서 비례적으로 증가하고, 혈중 함량이 급격하게 증가하는 것이 해산어류인 능성어(*Epinephelus septemfasciatus*)의 연구에서 보고되어졌으며, 코티졸 농도가 6°C 및 7°C에서 급격히 증가하고, glucose 또한 5°C 및 7°C에서 유의하게 증가하였다(Park et al., 2016). 또한, 붉바리(*Epinephelus akaara*)는 수온자극 2일 및 7일째에 코티졸과 글루코스의 변화량이 유의하게 증가함을 확인하였다(Cho et al., 2015). 이러한 결과는 넙치가 최적수온보다 낮아졌을 때, 급격한 스트레스의 요인으로 인해 혈장 내 코티졸 및 글루코스가 증가하는 결과와 일치한다.

9°C에서 Hb 및 Ht 값의 변화는 24 및 48시간 노출 후에 21°C와 비교했을 때, 유의한 차이를 보였다. 일반적으로, 혈액생리학적 변화는 스트레스 반응에 있어 2차적인 현상으로 나타난다(Barton and Iwama, 1991). 그 중에서도 Hb는 급격한 수온변화에 따른 스트레스를 받았을 때, 산소결합능력을 감소시킴으로써 심각한 영

향을 초래한다(Vinodhini and Narayanan, 2009). 이와 더불어 Ht는 혈액의 적혈구 용적비율을 나타내며, 스트레스에 노출되었을 때

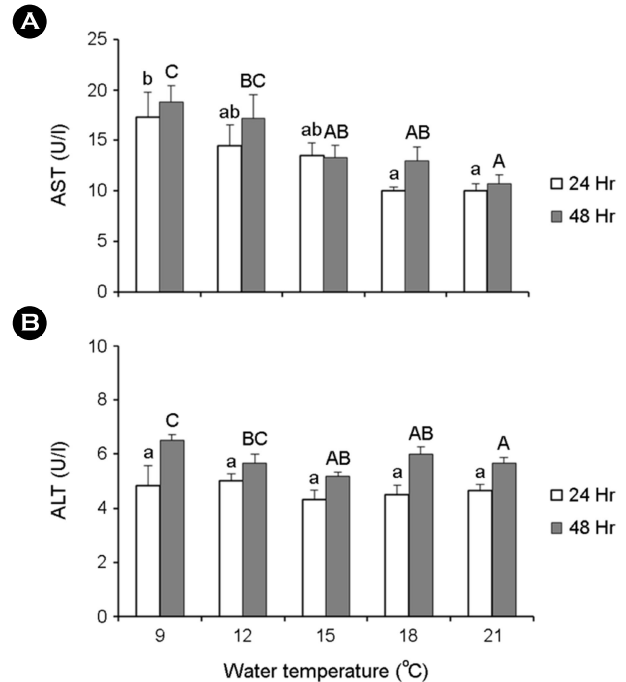


Fig. 4. Plasma AST (A) and ALT (B) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in different water temperature at the conclusion of this experiment. Data were expressed as mean \pm S.E. ($n=10$). Different letters denote significant difference among each group ($p < 0.05$).

Table 2. Plasma Na^+ , K^+ , Cl^- , total protein, NH_3 and osmolality of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* at different temperature

WT (°C)	Time (Hr)	Na^+ (mEq/l)	K^+ (mEq/l)	Cl^- (mEq/l)	Total protein (g/dl)	NH_3 ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	Osmolality (mmol/kg)
9	24	119.0 \pm 4.8 ^d	1.5 \pm 0.1 ^{ab}	104.2 \pm 4.8 ^c	1.6 \pm 0.2 ^b	331.8 \pm 13.5 ^e	347.5 \pm 5.3 ^c
	48	156.8 \pm 0.7 ^b	2.9 \pm 0.1 ^c	146.5 \pm 0.7 ^d	2.7 \pm 0.1 ^c	428.7 \pm 32.3 ^a	344.7 \pm 3.4 ^a
12	24	103.3 \pm 5.0 ^c	1.8 \pm 0.2 ^b	87.3 \pm 4.9 ^b	1.5 \pm 0.1 ^b	251.0 \pm 12.7 ^d	314.7 \pm 13.3 ^b
	48	155.5 \pm 28.1 ^b	2.5 \pm 0.6 ^{bc}	126.3 \pm 9.2 ^{bd}	2.0 \pm 0.1 ^b	433.3 \pm 41.2 ^a	341.2 \pm 2.4 ^a
15	24	100.3 \pm 6.0 ^{bc}	1.6 \pm 0.2 ^{ab}	85.8 \pm 5.8 ^b	1.3 \pm 0.2 ^b	199.0 \pm 7.2 ^c	290.7 \pm 14.9 ^{ab}
	48	138.8 \pm 8.1 ^b	1.9 \pm 0.2 ^{ab}	131.3 \pm 6.8 ^c	2.1 \pm 0.3 ^b	397.0 \pm 23.7 ^a	341.4 \pm 3.3 ^a
18	24	88.2 \pm 1.3 ^{ab}	1.3 \pm 0.1 ^a	69.7 \pm 2.3 ^a	0.8 \pm 0.1 ^a	153.5 \pm 4.4 ^b	251.0 \pm 17.3 ^a
	48	140.5 \pm 5.8 ^b	1.5 \pm 0.1 ^a	97.8 \pm 5.3 ^b	1.7 \pm 0.2 ^b	371.0 \pm 29.6 ^a	337.3 \pm 3.3 ^a
21	24	81.0 \pm 2.6 ^a	1.3 \pm 0.1 ^a	71.2 \pm 7.4 ^a	0.8 \pm 0.2 ^a	114.5 \pm 8.6 ^a	268.3 \pm 11.9 ^a
	48	84.3 \pm 1.3 ^a	1.2 \pm 0.1 ^a	65.7 \pm 3.0 ^a	0.7 \pm 0.1 ^a	362.7 \pm 45.3 ^a	334.7 \pm 3.0 ^a

Data were expressed as mean \pm SEM ($n=10$). Different letters denote significant difference among each group ($p < 0.05$)

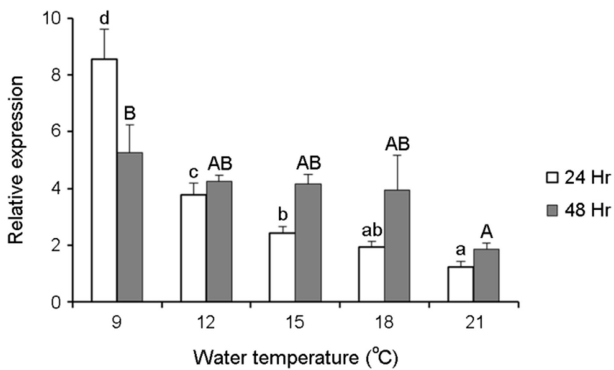


Fig. 5. Changes in Hsp70 mRNA expression during water temperature changes after 24 and 48 (9, 12, 15, 18 and 21°C) hours in the olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) of liver. Data were expressed as mean \pm S.E. ($n=10$). Different letters denote significant difference among each group ($p < 0.05$).

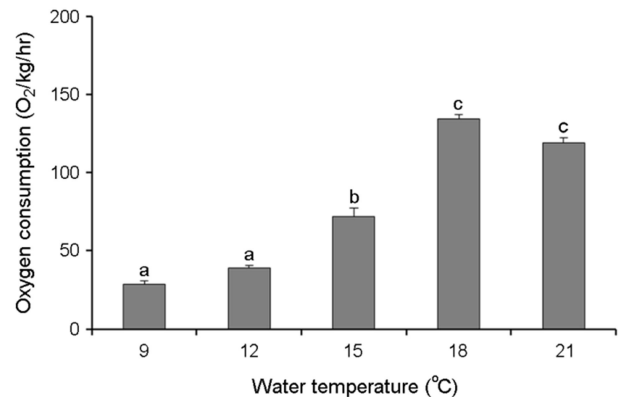


Fig. 6. The oxygen consumption (mg O₂/kg/h) of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in different water temperature at the conclusion of this experiment regimes ($p < 0.05$).

생체 내 항상성을 유지시키는데 주요한 역할을 한다(Iwama et al., 1989). 본 연구에서도 마찬가지로, 급격한 수온변화에 따른 스트레스로 인해 넙치의 Ht 및 Hb의 증가를 확인할 수 있었고, 이 결과는 넙치의 생체 내의 산소결합과 수송을 촉진하기 위한 반응에 따라 최적수온의 범위를 벗어난 수온에서 유의한 증가가 나타난 것으로 생각된다.

수온별 넙치의 혈장으로부터 AST 및 ALT, 전해질농도(Na⁺, K⁺ and Cl⁻) 및 삼투질농도, 총단백질 및 NH₃를 분석하였다. 첫 번째로, AST 및 ALT는 대부분의 척추동물의 간 세포에 존재하며, 간 기능의 검사지표로 사용된다. 다양한 스트레스 요인에 의해 간 세포가 단기간 및 장기간에 걸쳐 파괴되면 혈액 중에서 이들 효소의 수치가 증가하게 된다(Kang et al., 2007). 특히 어류에서는 주로 간 및 비장세포에 분포하며, 급격한 수온의 변화, 저산소(hypoxia), pH, 암모니아 및 중금속 오염에 의한 스트레스 반응으로 수치가 증가한다(Pan et al., 2003). 또한 Na⁺, K⁺, Cl⁻ 및 삼투질 농도에서도 다른 연구와 마찬가지로 급격한 수온변화에 따라 발생한 스트레스를 극복하기 위해 유의적인 차이가 나타난 것으로 보인다. 또한 어류에서 환경변화에 따른 스트레스 요인이 Na⁺, K⁺, Cl⁻ 및 삼투질농도의 변화가 해수 및 담수어류의 체내에 일정한 염분을 유지함으로써, 세포 내외의 경사를 유지하기 위하여 이온은 방출하고 물은 흡수하는 저삼투압조절 능력을 가진다(Min et al., 2006). 혈장 내 총단백질과 NH₃는 급격한 수온의 변화에 따라 적정수온으로부터 범위를 벗어나 수온이 낮아질수록 다른 실험구에 비해 유의적인 차이를 보였다. 어류의 총단백질량은 건강도, 영양상태 및 질병진단의 지표로 사용되어지고 있고(Nakagawa et al., 1977; Siddiqui, 1977; Byrne et al., 1989), 수온, 수질 및 기타 요인으로부터 발생한 스트레스에 의한 영향이 보고되어진 바 있다(McLeay and Brown, 1979; Ishioka, 1980). NH₃는 간 조직 기능의 저하로 인

해 혈액 내에서 증가하게 된다(Randall, 2002). 조피볼락(*Sebastes schlegelii*) (Do et al., 2016), 붕바리(*Epinephelus akaara*) (Lim et al., 2016), 숭어(*Mugil cephalus*) 및 나일틸라피야(*Oreochromis niloticus*) (Chang and Hur, 1999)로부터 수온 및 염분변화에 따른 스트레스 반응과 저산소증에 따른 삼투질농도가 증가하는 것이 보고되었다.

Hsp70 mRNA 발현은 대조구인 21°C에 비해 9°C에서 높았다. 또한 Hsp70은 수온자극, 환경변화 및 오염에 의해 발현되는 스트레스 관련 단백질로 잘 알려져 있고(Beckmann et al., 1990) 특히, 급격한 수온변화에 따라 민감하게 반응하는 단백질로 보고된 바 있으며(Feder and Hofmann, 1999), 다양한 요인에 의한 충격으로부터 생체 내 항상성(homeostasis)을 유지하는데 주요한 역할을 수행한다(Sanders, 1993; Suzue and Young, 1996; Iwama et al., 1998; Ackerman and Iwama, 2001).

수계에 녹아있는 용존산소는 수생생물의 호흡에 반드시 필요한 요소로써, 생리 및 생태학적 조건에 중요한 영향을 미치며, 급격한 수온변화에 따른 대사량 변화를 검증하기 위해 주로 산소소비량 조사를 수행하고 있고(Byun et al., 2008), 이 중 어류의 산소소비량은 수온, 사료섭취량 및 유영행동 등에 따라 차이를 보인다(Fonds and Veldhuis, 1973). 본 연구에서는 수온별 넙치의 산소소비량이 9°C 및 12°C에서 다른 실험구에 비해 급격히 낮아졌다. 이전의 어류에 관한 산소소비량의 연구에서는, 수온변화에 따른 대왕바리(*Epinephelus lanceolatus*)로부터 수온이 낮아졌을 때 감소하는 경향을 보였고(Jung et al., 2014), 수온별 pike perch (*Stizostedion lucioperca*) 자어의 산소소비량 또한 저수온에서 낮아지는 결과를 나타내었다(Zakes and Karpinski, 1999). 따라서, 본 연구의 결과도 마찬가지로 넙치의 적정 수온범위를 벗어나 수온이 낮아질수록 대사량이 떨어지는 것과 비례하여 산소소비량도 9°C 및 12°C에서 다른 실험구에 비해 유의적인 차이를 보인 것으로 사료된다.

본 연구의 결과들을 바탕으로 수온변화에 따른 넙치의 혈액생리학적 반응, 산소소비량 및 기초적인 분자 및 생리학적 매커니즘을 밝히는데 있어 기초적인 연구보고가 될 것으로 판단되며, 넙치의 장거리 수송 시에 필요한 적정수온 설정에 있어 기초 생물학적 자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청의 지원과제 수산종자 장거리 수송기술 개발 및 수출 경쟁력 강화(213008-05-1-SB110)에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- Ackerman PA, Iwama GK. 2001. Physiological and cellular stress responses of juvenile rainbow trout to Vibriosis. *Kor J Aquat Anim Health* 13: 173-180.
- Barton BA, Iwama GK. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annu Rev Fish Dis* 1: 3-26.
- Beckmann RP, Mizzen LE, Welch WJ. 1990. Interaction of HSP70 with newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly. *Sci* 248: 850-854.
- Bowden TJ. 2008. Modulation of the immune system of fish by their environment. *Fish Shellfish Immunol* 25: 373-383.
- Byrne P, Speare DJ, Ferguson HW. 1989. Effects of cationic detergent on the gills and blood chemistry of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Dis Aquat Org* 6: 195-196.
- Byun SK, Jeong MH, Lee JH, Lee BI, Ku HD, Park SU, Kim YC, Chang YJ. 2008. Diel rhythm of oxygen consumption of the starry flounder *Platichthys stellatus* by water temperature. *Kor J Fish Soc* 41: 113-118.
- 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. *Kor J Fish Soc* 32: 310-316.
- Choi CY, Min BH, Jo PG, Chang YJ. 2007. Molecular cloning of PEPCCK and stress response of black porgy (*Acanthopagrus schlegelii*) to increased temperature in freshwater and seawater. *Gen Comp Endocrinol* 152: 47-53.
- Cho HC, Kim JE, Kim HB, Baek HJ. 2015. Effects of water temperature change on the hematological responses and plasma cortisol levels in growing of red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Dev Reprod* 1: 19-24.
- Cossins AR, Schwarzbaum PJ, Wieser W. 1995. Chapter 6 Effect of temperature on cellular ion regulation and membrane transport systems. *Biochem Mol Biol Fish* 5: 101-126.
- Do YH, Min BH, Kim YD, Park MS. 2016. Changes on hematological factors and oxygen consumption of Korea rockfish *Sebastes schlegelii* in high water temperature. *JFMSE* 28: 738-745.
- Ellis AE. 2001. Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. *Dev Comp Immunol* 25: 827-839.
- Feder ME, Hofmann GE. 1999. Heat-shock protein, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annu Rev Physiol* 61: 243-282.
- Fonds M, Veldhuis C. 1973. The oxygen consumption of four *Pomatoschistus* species (Pisces, Gobiidae) in relation to water temperature. *Net J Sea Res* 7: 376-386.
- Forsyth RB, Candido EPM, Babich SL, Iwama GK. 1997. Stress protein expression in coho salmon with bacterial kidney disease. *J Aquat Anim Health* 9: 8-25.
- Iwama GK, McGeer JC, Pawluk MP. 1989. The effects of five fish anaesthetics on acidbase balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. *Can J Zool* 67: 2065-2073.
- Iwama GK, Thomas PT, Forsyth RB, Vijayan MM. 1998. Heat shock protein expression in fish. *Rev Fish Biol* 8: 35-36.
- Ishioka H. 1980. Stress reactions in the marine fish. I. Stress reactions induced by temperature change. *Bull Jap Sci Fish* 46: 523-532.
- Jung MH, Kim SD, Lim HK, Kim MJ, KIM BS. 2014. Effects of oxygen consumption in the giant grouper *Epinephelus lanceolatus* by water temperature and photoperiod. *Kor J Ichthyol* 4: 259-266.
- Kang DY, Kang HW, Kim GH, Jo KC, Kim HC. 2007. Effect of cold shock on the physiological response of the cultured mullet, *Mugil haematocheilus* in winter. *Kor J Fish Soc* 40: 226-233.
- Lim SG, Han SB, Lim HK. 2016. Effects of salinity on the growth, survival and stress responses of red spotted grouper *Epinephelus akaara* and hybrid grouper *E. akaara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂. *Kor J Sci* 49: 612-619.
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods* 25: 402-408.
- McLeay DJ, Brown DJ. 1979. Stress and chronic effects of untreated and treated bleached kraft pulpmill effluent on the biochemistry and stamina of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Can J Fish Res Board* 36: 1049-1059.
- Milani V, Noessner E, Ghose S, Kuppner M, Ahrens B, Scharner A.

2002. Heat shock protein 70: role in antigen presentation and immune stimulation. *Inter J Hypertherm* 18: 563-575.
- Min BH, Noh GA, Jeong MH, Kang DY, Choi CY, Bang IC, Chang YJ. 2006. Effects of oral administration of thyroid hormone on physiological activity and growth of black porgy reared in fresh water or seawater. *Kor J Aquac* 19: 149-156.
- Nakagawa H, Kayama, Ikuta K. 1977. Electrophoretic evidence of seasonal variation of carp plasma albumin. *J Fac Fish Anim Husb Hiroshima Univ* 16: 99-106.
- Nolan DT, Veld RO, Balm PHM, Wendelaar Bonga SE. 1999. Ambient salinity modulates the response of the tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters) to net confinement. *Aqua* 177: 297-309.
- Pan CH, Chien YH, Hunter B. 2003. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. *J Exp Mar Biol Ecol* 297: 107-118.
- Park JY, Park JM, Hong CK, Kim KM, Cho JK. 2016. Physiological and biochemical of blood on low temperature stress in seven-band grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *Kor J Ichthyol* 28: 1-8.
- Perry SF, Reid SD. 1993. β -adrenergic signal transduction in fish: interactive effects of catecholamines and cortisol. *Fish Physiol Biochem* 11: 195-203.
- Randall DJ. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin* 45: 1-12.
- Schlesinger MJ, Ashburner M, Tissieres A. 1992. Heat shock from bacteria to man. Cold Spring Harbor New York 131-137.
- Siddiqui N. 1977. Seasonal, size and comparative study of plasma proteins of four air breathing freshwater fishes. *Proc Indian Acad Sci Sect B* 85: 384-390.
- Srivastava P. 2002. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 2: 185-194.
- Suzue K, Young RA. 1996. Adjuvant-free hsp70 fusion protein system elicits humoral and cellular immune responses to HIV-1 p24. *J Immunol* 156: 873-879.
- Vinodhini R, Narayanan M. 2009. The impact of toxic heavy metal on the hematological parameters in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Iranian J Environ Health Sci Eng* 6: 23-28.
- Wedemeyer GA, Yasutake WT. 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. U.S. Fish Wildlife Service Technical 89.
- Wedemeyer GA, Mcleay DJ. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: Stress and Fish. Pickering AD ed Pergamon Press London UK 247-275.
- Yang SJ, JY Lee, JC Jun, JI Myeong, BH Min. 2017. Investigation of suitable temperature and salinity for long distance transport of the rockfish *Sebastes schlegelii*. *Kor J Fish Aquat Sci* 50: 25-31.
- Zakes Z, Karpinski A. 1999. Influence of water temperature on oxygen consumption and ammonia excretion of juvenile pike perch, *Stizostedion lucioperca* (L.) reared in a recirculation system. *Aquac Res* 2: 109-114.