

꽃게, *Portunus trituberculatus* 유생의 가스병 발생에 미치는 산소포화도 및 pH의 영향

강 주 찬·노 섬*

부산수산대학교 어병학과, *제주대학교 중식학과

꽃게의 종묘생산시에 많이 이용되고 있는 *Chlamydomonas* sp.를 접종한 green water에서 자연광 선조건하에 산소포화도와 pH의 변화가 이들 zoea유생에 미치는 영향을 조사하였다. 사육수의 pH와 산소포화도는 양자 모두 일출과 함께 상승하여 일몰과 함께 저하하는 규칙적인 주야간의 변동을 보였고, pH 8.6 이상으로 조절하였던 실험구의 pH는 최고 9.5 이상으로 상승하였다. 또한 *Chlamydomonas* sp. 농도가 310만 cell/cc 이상인 실험구의 산소포화도는 주간에 118% 이상으로 상승하였으나, 야간에는 급격히 감소하여 100% 이하로 저하하였다. 꽃게 zoea유생의 가스병은 실험개시 4시간후 pH와 산소포화도가 각각 8.5, 118% 이상에서 출현하여 수온 및 산소포화도의 저하와 함께 회복하는 경향을 나타내었으나, pH 및 산소포화도의 상승과 함께 연일에 걸쳐 출현하였다. 꽃게 zoea유생의 사망은 가스병이 관찰된 시점 ($\text{pH} \geq 8.5$, 산소포화도 $\geq 118\%$) 에서부터 발생하기 시작하여 수온, pH 및 산소포화도가 상승할수록 증가하였다.

Key words : Blue crab, *Portunus trituberculatus*, Gas-bubble disease, O_2 saturation, pH

꽃게, *Portunus trituberculatus*는 갑각류중 경제적으로 중요한 위치에 있는 종으로 최근 종묘생산 기술의 진전과 함께 부화에서 새끼게까지 사육기술에 대하여 많은 연구가 되여 왔다 (高場과 平田, 1976; 丹田과 柄多, 1980; 尾田과 鎌木, 1986, 1988). 그러나 꽃게 종묘의 대량생산에 있어 사육관리의 문제점 등은 아직도 중요한 과제로 인식되고 있고, 사육기간중의 사육수조내의 인위적 혹은 폐쇄적인 생태계의 환경관리의 適否가 생산량을 좌우하는 경우가 많다. 따라서 현시점에서는 보리새우와 같은 안정된 종묘생산이 이루어지지 않고 있으며, 기업화에는 멀리, 사육수의 환경 등과 같은 많은 문제점을 내포하고 있고, megalopa유생기 이후의 共食防止에 대해서도 뚜렷한 해명이 필요한 실정이다.

꽃게의 종묘생산은 다른 수산양식어종과 마찬

가지로 통상 *Chlamydomonas* sp. 및 *Chlorella* sp. 등에 의한 green water를 이용하고 있지만, 사육수중의 이들 조류의 중식밀도가 증가됨에 따라 종묘생산에 막대한 피해를 끼치는 경우를 종종 관찰할 수 있다. 즉 이들 조류를 이용한 green water에서 꽃게를 종묘생산할 경우, 통상 조도에 따라 pH의 변화 및 산소포화도의 급격한 증가가 보여지고 있으며, 이같은 사육환경에 있어서는 생산량이 극도로 저하되고 있다 (尾田과 鎌木, 1986, 1988). 또한 각종 종묘생산의 발달과 더불어 인위적으로 유생 및 치어를 관리할 경우, 자연조건과 사육환경이 다른 관계로 인해 많은 병이 발생하게 되는데, 그 중에 하나가 생물체의 체표, 순환계, 소화기관 및 그 외의 장소에서 가스가 발생하여 사육생물의 사망원인이 되는 가스병이다. 이 원인은 주로 용존질소 혹은

용존산소의 과포화에 관계하고 있으며, 이들 용존산소의 과포화가 수생생물에 직접적으로 저해영향을 미치는 현상에 대해서는 그 중요도에 비하여 단편적인 연구밖에 되어 있지 않다 (Matsue *et al.*, 1963; Marsh and Gorham, 1975; Phyllis, 1976).

이같은 관점으로부터 본 연구는 사육수의 관리적 측면에서 *Chlamydomonas* sp.를 이용하여 꽃게 유생을 사육할 경우, 사육수의 pH 및 산소포화도의 변화가 꽃게의 종묘생산에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

꽃게 zoea유생을 얻기 위하여 포란된 어미개는 1992년 5월에 日本瀬戸内海에서 어획된 것을 日本廣島大學 海洋研究所로 운반하여 1톤용량의 원형수조에서 유수사육하였다. 먹이는 냉동곤쟁이류와 조개류의 육질을 5:5로 혼합하여 매일 충분히 공급하였으며, 사육수조의 수온, 염분, pH 및 용존산소은 각각 18.2~30.7°C, 31.5~32.8‰, 8.1~8.3, 7.1~7.5mg/l의 범위였다. 이같은 조건하에서 사육한 어미개중에서 안정이 형성되어 알이 색깔이 검게 나타나는 알 방출이 예상되는 개체를 선별하여 4ℓ의 유리수조에 1개체씩 별도로 수용하였다. 어미개는 선별·사육 5일 후부터 1개체당 약 200만 개체의 zoea유생을 방출하기 시작하였으며, 사육실험은 같은 어미개로 부터 출생한 zoea유생을 사용하였다.

사육수는 용량 4ℓ의 유리 수조에서 실내에서 배양한 *Chlamydomones* sp.를 여과해수와 회석하여 6단계의 실험구간을 설정하였다. 즉 실험 1구는 *Chlamydomones* sp. 배양원액 600만 cell/cc (pH 8.8)을 사용하였고, 실험 2구에서 5구까지는 배양원액을 여과해수와 회석하여 4단계의 실험구, 즉 400만 cell/cc (pH 8.6), 310만 cell/cc (pH 8.5), 220만 cell/cc (pH 8.4), 70만 cell/cc (pH 8.2)의 사육수를 설정하였다. 아울러 실험 6구는 *Chlamydomones* sp. 배양액을 첨가하지 않은 여과해수 (pH 8.2)으로

사육수를 설정하였다. 이상의 각 실험수조에 꽃게 제 2기 zoea유생을 100개체씩 수용하여 실외의 자연광선하에서 1992년 6월 25일 14시부터 28일 10시까지 약 4일에 걸쳐 방치하였다. 먹이는 rotifera와 *Artemia salina*의 nauplius유생을 2:1 비율로 혼합하여 수질의 악화를 고려하여 매일 적당량을 공급하였으며, 전실험기간중의 사육수의 환경변화를 파악하기 위하여 염분은 염분측정기(YSI Model 133), 수온은 봉상온도계로, pH는 pH meter(D-11), 용존산소는 저농도 용존산소계(DO-30A, TOA Electronics Ltd.)로 2시간마다 측정하였다. 또한 용존산소의 과포화에 의한 가스병의 발생여부를 확인하기 위하여 수표면에 부상하는 유생들에 대하여는 복절부내에 가스를 가지고 있는지를 현미경으로 관찰하였고, 이들 개체수를 기준으로 하여 각 실험구의 가스병은 발병률로 나타내었다. 아울러 실험기간중의 유생의 상태를 관찰하였으며, 2시간마다 사망개체를 조사하여 실험수조로부터 제거하였다.

결 과

각 실험수조의 염분농도는 사육기간의 경과함에 따라 증가하여 사육종료시에는 최고 33.6‰에 달하였으나 전실험기간중의 변동폭은 0.8‰로 극소한 차이를 보였다. 실험기간중의 수온, pH, 산소포화도의 변동을 Fig. 1에 나타내었다. 수온은 실외의 직사광선의 영향으로 오후 2시에는 최고 32.8°C까지 상승하였으나, 야간에는 급격히 저하하여 최저 17.4°C를 나타내었다. pH와 산소포화도는 양자 모두 일출과 함께 주간에 상승하여 일몰과 함께 야간에 저하하는 동일한 변동경향을 보였지만, 모든 실험수조의 pH는 14~18시에 최고치, 2~6시에는 최저치를 나타내었다. 그리고 실험수조 모두 규칙적인 변동을 보여 주간에 상승, 야간에 저하하였고, 실험을 시작할 때 pH 8.6이상으로 조절하였던 사육실험구의 pH는 다음날 최고 9.7까지 상승하였다. 산소포

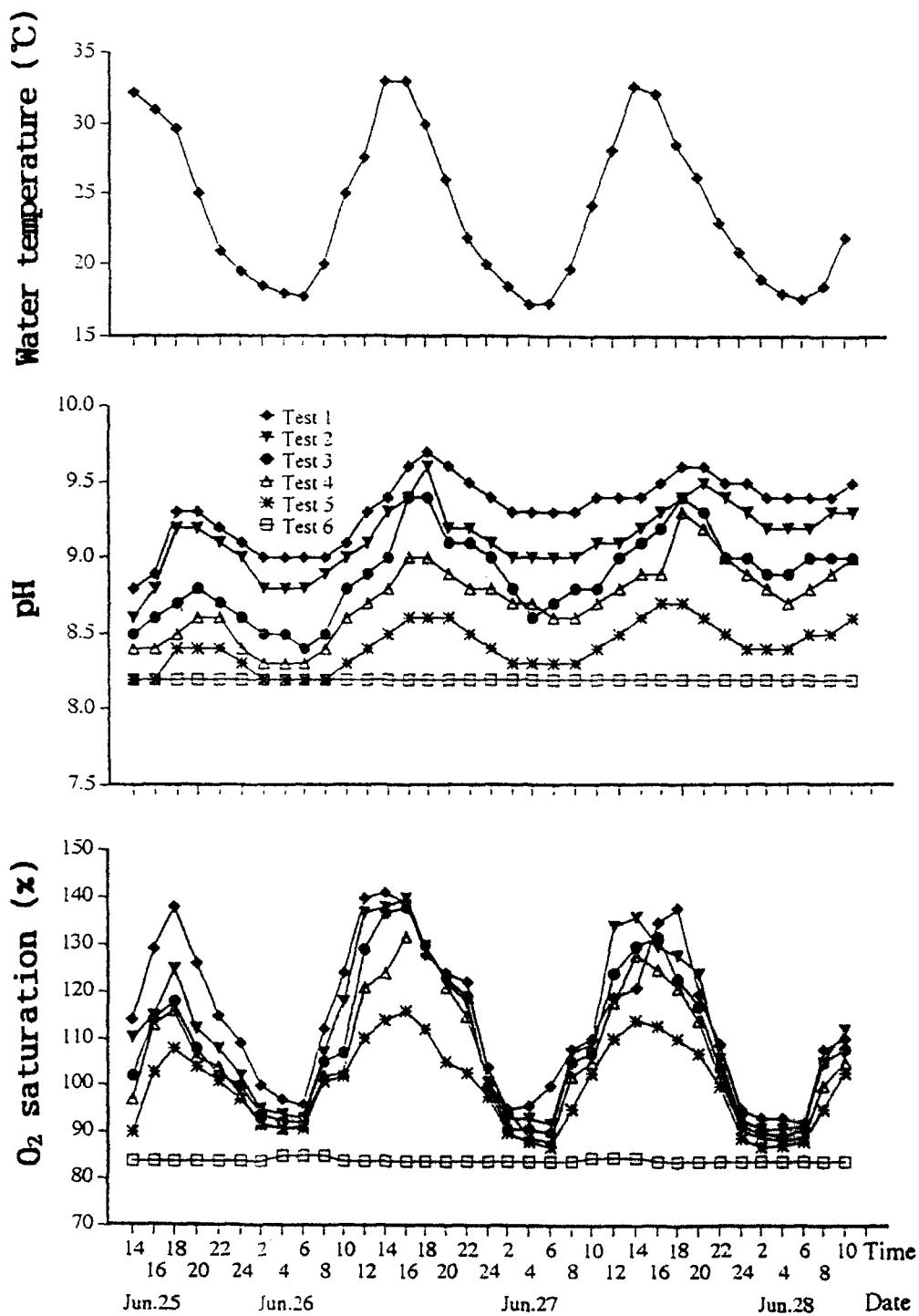


Fig. 1. Daily variations of water temperature, pH and O₂ saturation in the rearing chamber.

화도는 첨가 *Chlamydomonas* sp.의 농도에 따라 pH와 마찬가지로 주야간의 급격한 변동을 보였으며, *Chlamydomonas* sp. 농도가 310만 cell/cc 이상인 실험구에서는 12~16시에는 산소포화도가 118% 이상으로 상승하였으나 야간에 급격히 저하하여 2~6 시에는 포화도 100% 이하를 나타내었다. 이상의 각 사육조건에서 꽃게 zoea유생은 실험시작 4시간후, 실험 1, 2, 3구에서 각각 14, 5, 3개체가 사육수표면에 부상하여 이상한 유영상태를 나타내기 시작하였다. 이들 개체는 복절부의 소화관에 가스를 충만한 상태로 부상하였다(Fig. 2). 초기 가스병이 발생했을 때의 pH와 산소포화도는 각각 실험 1구에서 pH 9.4, 138%, 실험 2구에서 pH 9.2, 125%, 실험 3 구에서 pH 8.8, 118%였다. 가스병 발생후 20시에 pH는 아직 저하하지 않았으나 산소포화도는 실험 1, 2, 3구에서 각각 126, 112, 108%로 감소하기 시작하였고, 이후 가스병개체는 출현하지 않았다. 그러나 실험시작 다음날인 12시부터 가스병은 실험 1, 2, 3, 4구에서 다시 발생하기 시작하였고, 14시에는 실험 6구를 제외한 모든실험구에서 출현하여 18시 까지 증가하는 경향을 나타내었다.

즉, 꽃게 zoea유생의 가스병은 단기간의 사육실험에서 pH와 산소포화도의 저하에 따라 회복하는 경향을 나타내고 있지만, 수온과 산소포화도의 상승과 함께 다시 발생하는 경향은 연일에 걸쳐 관찰되었다 (Table 1). 가스병의 발생현황과 pH, 산소포화도의 관계에 대하여 Fig. 3에 나타내었다. 꽃게 zoea유생의 가스병은 pH 8.5이상, 산소포화도 112% 이상에서 출현하기 시작하여 pH와 산소포화도가 상승할수록 증가하는 경향을 보였다. 그러나 각 실험수조의 pH와 산소포화도가 각각 pH 8.5, 112% 이상에 달하드래도 정상적인 활동을 보이거나 가스병이 발생하지 않은 경우, 그리고 가스병이 관찰되기까지의 소요된 시간은 각각 다르게 나타났다.

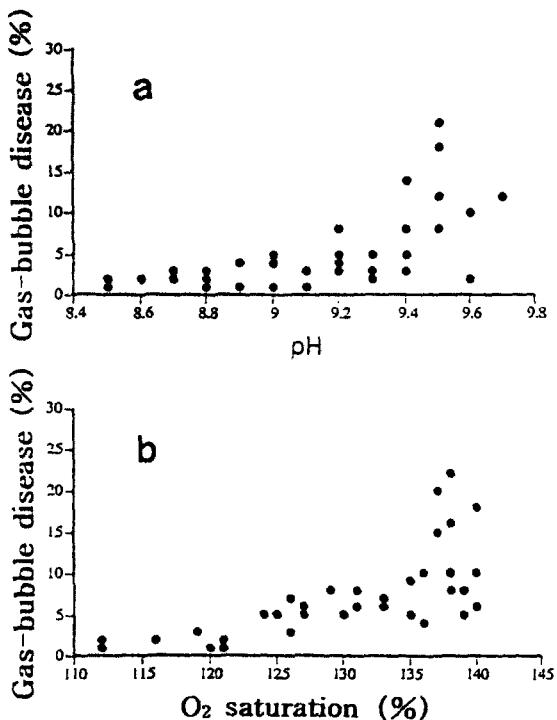


Fig. 2. Zoeal larvae of *Portunus trituberculatus* : (a) is filled with gas in an alimentary canal; (b) is showed normal individual.

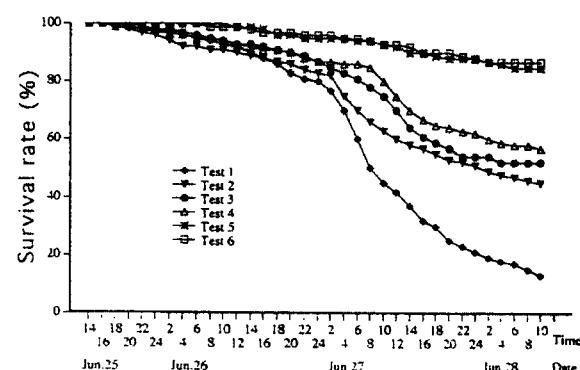
Fig. 3. Relationship between gas-bubble disease and rearing conditions in zoeal larvae of *Portunus trituberculatus* : (a) Relationship between gas-bubble disease and pH; (b) Relationship between gas-bubble disease and O₂ saturation.

Table 1. Gas-bubble disease in the zoeal larvae of *Portunus trituberculatus*.

| Duration | | No. of gas-bubble diseased crab/No. of crab survived | | | | | |
|----------|-------|--|--------|--------|--------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Days | Hours | | | | | | |
| June, 25 | 14 | 0/100 | 0/100 | 0/100 | 0/100 | 0/100 | 0/100 |
| | 18 | 14/ 97 | 5/ 99 | 3/ 99 | 0/100 | 0/100 | 0/100 |
| June, 26 | 12 | 3/ 89 | 3/ 91 | 3/ 93 | 2/ 94 | 0/ 98 | 0/ 99 |
| | 14 | 4/ 87 | 4/ 89 | 9/ 92 | 6/ 92 | 2/ 96 | 0/ 97 |
| | 16 | 6/ 86 | 7/ 87 | 12/ 90 | 10/ 91 | 3/ 95 | 0/ 96 |
| | 18 | 9/ 81 | 17/ 83 | 22/ 87 | 12/ 89 | 5/ 94 | 0/ 91 |
| June, 27 | 12 | 4/ 42 | 4/ 60 | 5/ 70 | 2/ 72 | 0/ 93 | 0/ 91 |
| | 14 | 6/ 40 | 5/ 58 | 3/ 62 | 2/ 67 | 0/ 91 | 0/ 89 |
| | 16 | 2/ 31 | 3/ 55 | 4/ 60 | 0/ 65 | 0/ 89 | 0/ 88 |
| June, 28 | 10 | 0/ 13 | 0/ 46 | 0/ 52 | 0/ 60 | 0/ 84 | 0/ 86 |

실험기간중의 꽃게 zoea유생의 생존율을 Fig. 4에 나타내었다. 사망은 실험시작인 당일 18시부터 가스병이 관찰된 실험구에서 발생하기 시작하여 수온, pH 및 산소포화도가 증가할수록 많이 발생하였다. 실험종료후의 생존율은 실험 1구에서 13%로 가장 낮게 나타났고, 실험 5~6구에서는 85% 이상으로 높게 나타났다. 실험을 시작할 때 제 2기 zoea유

후하여 가장 많이 발생하였다. 즉 pH와 산소포화도의 변동에 의한 꽃게 zoea유생의 사망은 가스병이 많이 관찰된 실험구에서 탈피도중 혹은 탈피직후에 많이 발생하였다. 한편 *Chlamydomonas* sp. 배양액을 첨가하지 않은 여과해수만을 사용한 실험 6구에서는 가스병개체가 관찰되지 않았고, 유생의 상태는 정상적인 활동을 하거나 수조저면에 위치하여 완만한 유영활동을 나타내었다.

Fig. 4. Survival rate in the zoeal larvae of *Portunus trituberculatus*.

생은 사육 이틀후 부터 제 3기 zoea유생으로 변태를 시작하였고, 전 실험기간중의 사망은 이 시기를 전

고 찰

꽃게의 종묘생산은 사육수에 *Chlamydomonas* sp. 및 *Chlorella* sp. 등을 접종하여 사육하는 방법이 일반적으로 알려져 있다 (丹田과 柄多, 1980; 尾田과 鎌木, 1986, 1988). 자연광선조건에서 *Chlamydomonas* sp.의 접종에 의해 꽃게 zoea유생을 사육한 결과, 사육수의 pH와 산소포화도는 주간에 급격히 상승하였고, 야간에 저하하는 경향을 나타내었다. 이들 변동은 당연히 사육기간중의 실외의 조도, 당초의 사육수에 첨가한 *Chlamydomonas* sp. 농도 및 사육기간 중에 증식한 *Chlamydomonas* sp. 농도의 영향으로 생각된다. 따라서 이같은 사육환경에서

꽃게 zoea유생은 pH와 산소포화도의 급격한 상승과 함께 그 결과로서 생각할 수 있는 가스병 및 사망이 관찰되었다.

수산양식어종의 유생에 있어 가스병은 주로 산소포화도와 밀접한 관계가 있으며, 사육수의 용존 산소가 과포화일 경우에는 그들의 종묘생산에 많은 피해를 끼치고 있다 (Matsue *et al.*, 1963; Marsh and Gorham, 1975). 또한 Imamura *et al.* (1968)은 *Neptunus trituberculatus* 유생의 가스병은 용존산소의 과포화에 의한 결과라고 보고하고 있다. 본 연구에서 꽃게 zoea유생의 가스병은 실험시작 4시간 후, 산소포화도가 118% 이상인 실험구에서 처음으로 출현하였고, 전실험기간중에는 산소포화도가 최저 112% 일 때 출현하기 시작하여 이 값이 상승할수록 발병율은 증가하였다. 그러나 각 실험수조의 산소포화도가 112% 이상에 달하드래도 정상적인 활동을 보이거나 가스병이 출현하지 않은 경우, 혹은 가스병이 출현하기까지의 소요된 시간이 각각 다르게 나타났다. 따라서 본 실험결과에서 관찰된 산소포화도 112%가 꽃게 zoea유생의 가스병을 유발할 수 있는 최저 수치라고 규정하기에는 다소의 문제점을 내포하고 있다.

Kawakusa(1954)는 어류유생의 가스병 발생에 미치는 산소포화도에 대해서 같은 수준의 산소포화도에 있어서도 경과시간에 따라 발병율이 다르다고 보고하였다. 따라서 사육환경변화의 폭이 크지 않은 유수식 사육인 경우에는 “한정된 시간 내에 그 사육생물이 몇 퍼센트가 가스병을 일으킬 수 있는 산소포화도는 몇이다”라고 규정할 수 있을 것이다. 그러나 자연광선하의 정수식사육인 경우, 산소포화도는 *Chlamydomonas* sp. 증식 등에 의해 주간과 야간사이에 뚜렷한 차이를 보이는 것이 일반적인 현상으로 이 경우에는 단기간 내에 1개체라도 발병할 산소포화도를 발병한계포화도라고 하는 것이 타당할 것이다. 이같은 의미에서 보면, 꽃게 zoea 유생의 가스병은 산소포화도 118-149%의 범위에서 4시간 이내에 발생할 것으로 추정된다. 그러나 이

값은 강한 직사광선과 고수온하에서 사육한 결과이다. Kawakusa(1959)는 어류유생의 가스병에 있어 어체온의 상승이 발병률을 촉진시킨다고 지적하고 있어, 사육수온의 변화에 따라 상기의 값도 다소 변화가 있을 것이라고 생각된다. 또한 산소포화도와 가스병과의 관계에서 어류유생의 가스병 발생은 본 실험에서 얻은 값보다 상당히 높은 값으로 규정하고 있기 때문에 산소포화도에 대한 꽃게 zoea유생의 저항성은 어류유생보다 낮을 것이라고 생각된다.

꽃게 zoea유생의 가스병은 일몰후의 수온 및 산소포화도의 저하와 함께 모든 실험구에서 출현하지 않았다. 따라서 이 시점에서 꽃게 zoea유생의 가스병은 일단 회복하는 것으로 추정된다. 그러나 *Chlamydomonas* sp. 농도의 증식과 함께 하루종의 수온 및 산소포화도가 급상승함에 따라 가스병은 다시 출현하기 시작하였고, 이 현상은 연일 계속되었다.

가스병의 치료에 대해서 松井(1964)은 용존산소의 과포화에 의한 병어인 경우, 가스함유량이 적은 정수에 격리했을 때 회복이 용이하다고 보고하였다. 또한 丹田과 柄多(1980)는 가스병에 걸린 *N. trituberculatus*를 여과해수중에 격리했을 경우 40~90분에 가스를 소실하고, 생존할 수 있었다고 하였다. 따라서 꽃게 zoea유생에 있어서도 앞에서 기술한 것처럼 수온 및 산소포화도의 저하에 따라 가스를 소실하여 회복하고 있을 것으로 추정되며, 이 소실의 과정에서는 수온변화에 의한 가스 체적의 물리적 감소도 포함되어 있지만 완전히 소실된 시점으로부터 생리적으로 체내 혹은 체외로 이동시켰을 가능성도 생각할 수 있다.

꽃게 zoea유생의 사망은 탈피도중, 탈피직후 및 그 외의 현상에 의해 발생하였고, 특히 탈피도중 혹은 탈피직후 대부분의 사망개체가 관찰되었다. 또한 사망은 수온, pH 및 산소포화도가 상승함에 따라 증가하였고, 이들 값의 저하와 함께 감소하였다. 그러나 다음 단계의 수온, pH 및 산소포화도가 일정수준 이상으로 상승하게 되면, 사망은 다시 증가하는 경향을 나타내었다. 이같은 결과는 수온,

pH 및 산소포화도의 변화가 꽃게 zoea유생의 사망에 직접적으로 관여하고 있다는 것을 의미하며, 특히 에너지 소모가 크게 일어나는 탈피를 전후한 시기에 그 영향이 클 것으로 생각된다. 木谷(1968)는 꽃게 zoea유생은 pH의 변동에 대하여 적응성이 약하다고 보고하였다. 그러나 사육수의 *Chlamydomonas* sp. 등이 끊임없이 증식상태에 있을 경우, 당연히 pH와 산소포화도은 주간과 야간사이에 큰 폭으로 변동할 것이다. 본 실험결과, 사육수의 수온, pH 및 산소포화도의 변화곡선은 대체로 같은 경향을 나타내었다. Tazuno(1979)는 pH의 변화로서 산소포화도를 추정하는 실험에서 오차가 발생할 수 있는 위험성을 지적하고 있지만, pH는 산소포화도와 더불어 중요한 사육환경의 지표로서 취급되어져야 할 것이며, 수온의 변화도 중요한 요인으로 작용할 것으로 생각된다. 이같은 관점에서 보면, 꽃게의 초기 종묘생산중의 zoea기 단계에서 수온, pH 및 산소포화도는 대단히 중요한 환경인자로서 규정지을 수 있으며, 꽃게 zoea유생의 사망원인으로 작용한 pH 8.5이상, 산소포화도 118% 이상은 꽃게의 종묘생산에 있어 중요한 매개변수로 작용할 것이다. 따라서 이를 수치를 기준으로 하여 해수의 교환 등에 의해 사육수의 pH값과 산소포화도를 적정수준으로 조절할 경우 꽃게의 종묘생산에 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 추정된다.

참 고 문 헌

Imamura, K., Yamamoto, O. and Nishida, S.: Effect of dissolved oxygen on gas disease of blue crab, *Neptunus trituberculatus*. Aquicul-

- ture, 16 : 21-29, 1968.
- Kawakusa, S.: Effect of dissolved oxygen on gas disease of fish. Science, 24 : 262-263, 1954.
- Kawakusa, S.: A study on gas disease of freshwater fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 15 : 83-87, 1959.
- Marsh, M. C. and Gorham, F. P.: The gas disease in fishes. pp. 343-376. Rept. Bureau of Fisheries(Washington), 1975.
- Matsue, K., Kawakusa, S. and Dazuhe, I.: Content of dissolved nitrogen in fishes. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 19 : 439-444, 1963.
- Phyllis, T. J.: Gas-bubble disease in the blue crab, *Callinectes sapidus*. J. of Inver. Pathol., 27 : 247-253, 1976
- Tazuno, N.: Water quality of fish farm. Aquicul., 6 : 40-48, 1979.
- 高場 捎, 平田 貞郎: ガザミに関する研究-1, 令期と甲幅および孵化後経過日数の関係. 廣島水試研報, 6 : 7-15, 1976.
- 丹田 勝義, 柄多 哲他: ガザミ種苗生産放流事業. 兵庫水試事報. 9 : 21-30, 1980. 尾田 正, 鎌木 昭久: ガザミの種苗生産. 岡山水試報, 1 : 186-188, 1986.
- 尾田 正, 鎌木 昭久: ガザミの種苗生産. 岡山水試報, 3 : 214-217, 1988.
- 松井 魅: 養鰻法の理論と實際 89. pp. 23-34, 日本水產資源保護協會, 1964.
- 木谷 益邦: ガザミ種苗生産技術研究報告. 福井縣水試, pp. 112-123, 1968.

Effects of O₂ saturation and pH on Gas-bubble disease of blue crab, *Portunus trituberculatus*.

Ju-Chan KANG and Sun RHO*

Department of Fish Pathology, College of Fisheries Sciences, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea *Department of Aquaculture, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

In order to examine the effects of O₂ saturation and pH on gas-bubble disease of blue crab, *Portunus trituberculatus*, zoeal larvae were reared under 5 different concentrations (6.0, 4.0, 3.1, 2.2, and 0.7million cell/cc) of *Chlamydomones* sp. under natural light for 4days. Observed pH and O₂ saturation in the rearing chamber increased drastically from 12 to 18 o'clock with the increasing of *Chlamydomones* sp. concentrations, but rapidly decreased from 2 to 6 o'clock in the rearing chamber. Gas-bubble disease of zoeal larvae was observed 4hours after starting of experiment at the pH 8.5 and 118% O₂ saturated conditions in rearing chamber during the day, and recovered rapidly with the decreasing of pH and O₂ saturation at night. Thus, gas-bubble disease of zoeal larvae was repeated with the increased pH (≥ 8.5) and O₂ saturation ($\geq 118\%$) almost every days. Mortality of zoeal larvae was observed when pH and O₂ saturations were reached 8.5 and 118% levels respectively, and deteriorated with the increasing of water temperature, pH and O₂ saturation.

Key words : Blue crab, *Portunus trituberculatus*, Gas-bubble disease, O₂ saturation, pH