

조피볼락, *Sebastes schlegeli*의 혈액학적 성분변화에 미치는 구리 및 온도의 복합적 영향

백수경* · 민은영** · 강주찬***

*부산광역시 수산자원연구소, **부경대학교 수산생명의학과

Combined effects of copper and temperature on Hematological constituents in the Rock fish, *Sebastes schlegeli*

SuKyong Baeck*, EunYoung Min** and Ju-Chan Kang**†

*Busan Marine Fisheries Resources Research Institute, Buasn 618-814

**Department of Aquatic life medicine, Pukyong National University, Busan 608-737

Copper (CuSO₄) has been widely used to control algae and pathogens in fish culture ponds. However, its toxic effects on fish depend not only on its concentration in water but also on water quality. The susceptibility of the rockfish, *Sebastes schlegeli* to copper was evaluated at three water-temperatures (WT; 18, 23 and 28°C) for 4 days. After the exposure of two copper concentrations (100 and 200 µg/L), a hematological effect was exerted on rockfish, by causing changes in red blood cell count and hematocrit value at 28°C. Total protein levels of the fish showed a tendency of co-increase with glucose depend on the WT, after copper exposure. However, the plasma calcium and magnesium levels were significantly increased at 200 µg/L copper, regardless of the WT. Enzymes activities including ALT and LDH in serum were also significantly increased depend upon the copper treatment only. This indicates that inorganic components and enzymes activities were sensitive indexes to stress by toxicant such as copper. The cortisol levels were significantly elevated by both WT rising and copper treatment in serum of rock fish. In conclusion, these changes can be seen as an initial response to temperature stress and as a sustaining response to copper exposure. The present findings suggest that a simultaneous stress by temperature change and copper exposure could accelerate an alteration of hematological and plasma biological parameters in the rockfish.

Key words: *Sebastes schlegeli*, Copper, Temperature, Hematology, Serum enzymes, Cortisol

최근 한국 연근해 수온의 장기변동과 관련한 연구에서 우리나라 동, 서 및 남해 해역의 표층 수온의 지속적인 상승이 보고되었다 (Seong et al., 2010). 온도는 생물체의 성장, 번식 및 분포에 영향을 미

치는 중요한 요인으로 작용하며, 특히 어류는 수온 변화에 민감하여 대사, 삼투압 조절 및 면역 등의 생명활동에 큰 영향을 받을 뿐 아니라, 미미한 수온 변화에도 생존의 위협을 받는 것으로 알려져 있다 (Logue et al., 1995). 국·내외 연구에서 수온의 급변이 어체의 생리적 변화 및 스트레스 요인으로 작용하여, 생체 내 대사와 혈액성상의 변화를 보인다

†Corresponding author: Ju-Chan Kang
Tel: 051-629-5944, Fax: 051-629-5938
E-mail: jckang@pknu.ac.kr

다고 보고된 바 있다 (Barton and Iwama, 1991; Ryan, 1995; Park et al., 1999; Chang et al., 2001). 우리나라 해상 수온이 급격하게 변동하는 경우는 여름철 동해안의 저층수가 용승하여 발생하는 냉수대 현상과 임해 발전소의 냉각수로 배출되는 온배수에 의한 주변 수역의 수온 상승 현상을 들 수 있다 (Chang et al., 2002).

구리 (Cu)는 생물의 정상적인 세포대사에 필수적인 영양 성분이지만, 필요 이상의 농도에 노출되거나 생체 내 축적되어 균형이 무너질 경우, 세포 내부의 구조 및 기능 이상을 유발하며, 프리 라디칼을 형성하는 산화환원 반응을 유도할 수 있어 생리활성에도 부정적인 영향을 미칠 수 있다 (Linde et al., 2005). 최근 예는 양식어망의 부착생물 억제 및 항균활성의 특징으로 부각되었지만 (Xiuling et al., 2012), 상당 기간 동안 선체 도료, 목제 보존제 및 양어장의 기생충 살충제로 널리 사용되어 산업용수 및 생활하수로 인근해 유입이 지속되어 왔다 (Tucker, 1985; Clark, 1996). 이러한 구리 (Cu)의 수중 노출로 인한 수생생물에 대한 체내 축적 및 독성영향이 보고되고 있다 (Rojik et al., 1983; Park et al., 2009; Shin et al., 2013).

한편 어류의 혈액은 여러 가지 환경 요인에 의해 그 구성성분이 변동되므로 어류의 생리적 영향 수준을 파악하는데 유용한 수단으로 활용될 수 있다. 따라서 여러 종류의 독성물질들에 대한 다양한 어류의 혈액성상 변화에 대한 연구가 수행되어 왔으며, 특히 어류의 혈청 화학성분은 유해화학물질의 노출에 의한 대사 장애의 수준을 판단할 수 있는 주요한 지표로 사용될 수 있다 (Min et al., 2004; Hwang et al., 2013; Ahn et al., 2013). 그 중에서도 혈중 스트레스 호르몬으로 알려진 코티졸 (cortisol)은 탄수화물, 단백질 및 지질 대사에 관여하며, 간의 글루코즈 (glucose)의 생성에도 연관하고 있다 (Gamperl et al., 1994).

따라서 본 연구는 조피볼락, *Sebastes schlegeli* 양식 과정 중 처할 수 있는 구리 (Cu)로 인한 연안 오염과 수온 상승으로 인한 복합적인 영향을 평가하기 위하여 혈액 및 혈청학적 변동을 검토하였다.

Table 1. The chemical components of seawater and experimental condition used in this experiment

Test parameters	Value
Culture type	Renewal 24h toxicity test
Temperature (°C)	18.0±0.5
pH	8.1±0.5
Salinity (‰)	33.5±0.6
Dissolved oxygen (mg/L)	7.1±0.3
Chemical oxygen demand (mg/L)	1.13±0.1
Ammonia (mg/L)	12.5±0.7
Nitrite (µg/L)	1.3±0.3
Nitrate (µg/L)	11.48±1.0
Copper (µg/L)	≤ 0.1

재료 및 방법

실험어

조피볼락, *Sebastes schlegeli*은 경남소재 양식장 으로부터 분양 받아 Table 1의 실험조건에서 4주 이상 순치 시킨 후, 외관상 질병증세가 없는 건강한 개체 (전장, 13.29±1.03 cm; 체중, 29.76±1.04 g)를 선별하여 구간별 12마리씩 입식 하여 실험하였다.

실험과정

실험은 항온실에서 유리수조 (39 × 54 × 30 cm)를 사용하여 1일마다 실험용액을 교환하는 환수식으로 실시하였고, 실험조건은 Table 1과 같다. 실험 온도 유지는 히터기 (Electronic thermostat, MS701-H, Mink, Korea)를 사용하여 각각 18°C, 23°C 및 28°C로 유지하였다. 실험 용액은 Copper(II) sulfate minimum 99% (Sigma-Aldrich Co. LLC)를 증류수에 용해시켜 stock solution을 만든 후, 여과해수로 희석하여 노출농도가 각각 0, 100 및 200 µg/L이 되도록 설정하였다. 실험은 4일간 노출시킨 후 시료를 채취하였으며, 2회 반복실험으로 혈액학적 변동을 검토하였다.

혈액성상

혈액은 응고를 방지하기 위해 heparin-Na (5,000 IU, 중의제약)을 처리한 1회용 주사기를 사용하여 실험어의 미부정맥에서 채취하였다. 채취한 혈액

을 사용하여 RBC 계수 (Red blood cell count), hemoglobin (Hb) 농도 및 hematocrit (Ht)을 즉시 분석하였다. RBC 계수는 Hendrick's diluting solution으로 혈액을 400배 희석한 후, Hemo-cytometer (Improved Neubauer, Germany)를 이용하여 광학현미경으로 계수하였다. Ht는 Ht 모세관을 이용하여 Microhematocrit centrifuge (Model; 01501, HAWKSLEY AND SONS Ltd., England)에서 12,000 rpm, 5분간 원심분리 후 판독관 (Micro-Haematocrit reader, HAWKSLEY AND SONS, England)로 측정하였다. Hb 농도는 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 이용하여 Cyan-methemoglobin법으로 측정하였다.

혈청성분

채취한 혈액은 4°C, 3000 g로 5분간 원심분리 (MIKRO 22R, Hettich, Germany)한 후, 혈청을 분리하였다. 혈청은 무기성분, 유기성분, 효소활성 및 스트레스 호르몬인 cortisol의 변화를 검토하는데 사용되었다. 혈청 무기성분인 칼슘 (Ca)과 마그네슘 (Mg)은 각각 ortho-cresol-phthalein-complexone (OCPC)법과 Xylidyl blue법에 의해 분석되었고, 시판되고 있는 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 이용하였다. 혈청 유기성분인 glucose는 oxidase 및 peroxidase (GOD/POD)법으로, 총 단백질 (total protein)은 Biuret 법을 바탕으로 한 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)로 분석하였다. 효소활성으로 ALT (alanine aminotransferase) 및 AST (aspartate aminotransferase)를 Reitma-Frankel법으로, LDH (lactate dehydrogenase)는 LDH 젯산 기질법에 의하여 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 이용하여 분석하였다.

혈중 cortisol은 방사성면역측정법 (RIA, Radioimmunoassay)으로 분석하였으며, 실험에 사용된 방사선 표지 cortisol은 [1,2,6,7-³H] cortisol (Amersham, England)이며, 항체는 Anti-cortisol (antibody produced in rabbit, Sigma-Aldrich Co. LLC)을 사용하였다. Cortisol의 최소 검출량은 22.5 pg/mL이었으며, intra-assay와 inter-assay 사이의 변동계수는 각각 2.8%와 8.1% 였다.

유의성 검정

실험 분석 결과에 대한 통계학적 유의성은 SPSS 통계 프로그램 (SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA test를 실시하여 Duncan's multiple range test를 통해 $P < 0.05$ 일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

혈액성상

구리에 4일간 노출된 조피볼락의 수온변화에 따른 혈액성상의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. RBC 계수 ($\times 10^4/\text{mm}^3$)는 수온이 18°C와 23°C일 때는 200 $\mu\text{g/L}$ 구간만이 대조구에 비해 유의한 감소를 보였으나, 수온이 28°C일 때는 100과 200 $\mu\text{g/L}$ 구간 모두 유의하게 감소하였다. Ht (%)값은 200 $\mu\text{g/L}$ 구간에서, 18°C와 23°C일 때는 각각 39%와 40.6%를 보여 구리 노출구간에 따른 유의한 변화가 관찰되지 않았으나, 수온이 28°C일 때는 25.6%로 유의한 감소가 관찰되었다. Hb (g/dL)은 수온변화 및 구리 노출에 따른 유의한 변화가 나타나지 않았다.

혈청성분

구리에 노출된 조피볼락의 혈청 무기성분의 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 칼슘이온 (mg/dL)은 수온변화와는 상관없이 200 $\mu\text{g/L}$ 구간에서 유의한 상승을 보였다 ($P < 0.05$). 마그네슘 또한, 수온변화에 따른 유의한 변화는 보이지 않았으나, 구리 농도 200 $\mu\text{g/L}$ 구간에서 3.84 mg/dL로, 대조구의 값이 3.25 mg/dL인 것보다 높게 나타났다 ($P < 0.05$).

구리에 노출된 조피볼락의 혈청 유기성분의 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 조피볼락의 혈청 glucose (g/dL) 농도는 18°C에 비해 수온이 증가함에 따라 유의한 증가를 보였고, 구리 노출에 따라서도 대조구와 비교하여 100과 200 $\mu\text{g/L}$, 두 구간 모두에서 유의한 증가를 보였다. 조피볼락의 total protein (g/dL)은 18°C일 때는 200 $\mu\text{g/L}$ 구간에서만 대조구에 비해 유의한 증가를 보였으나, 수온이 23, 28°C로 증가할수록 100 $\mu\text{g/L}$ 을 포함하여 모든 구리 노출구간에서 유의하게 증가를 하였다. 특히 28°C일 때는 200 $\mu\text{g/L}$ 구간이 8.95 g/dL로, 100 $\mu\text{g/L}$

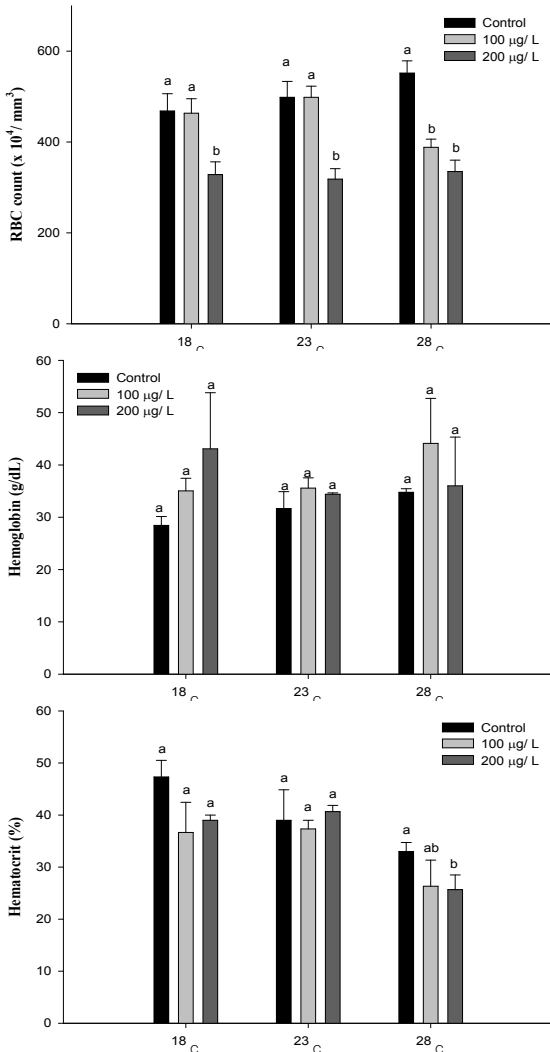


Fig. 1. Hematological parameters of *Sebastes schlegeli* exposed to the various concentration of copper at 18, 23 and 28°C for 4 days. Vertical bar denotes one standard deviation of the mean. Different letters indicate significant difference ($P<0.05$) between the groups.

L의 8.18 g/dL 보다 높은 total protein 값을 보였으나 ($P<0.05$), 대조구에서 온도에 따른 변화는 관찰되지 않았다.

구리에 노출된 조피볼락 혈청의 효소활성 변동은 Fig. 4에 나타내었다. ALT (KU) 활성은 구리에 노출된 모든 조피볼락의 혈청에서 노출되지 않은 구간보다 유의하게 높았으며, 특히 28°C일 때, 200 µg/L 구간에서 88.29 KU로 가장 높은 ALT 활성

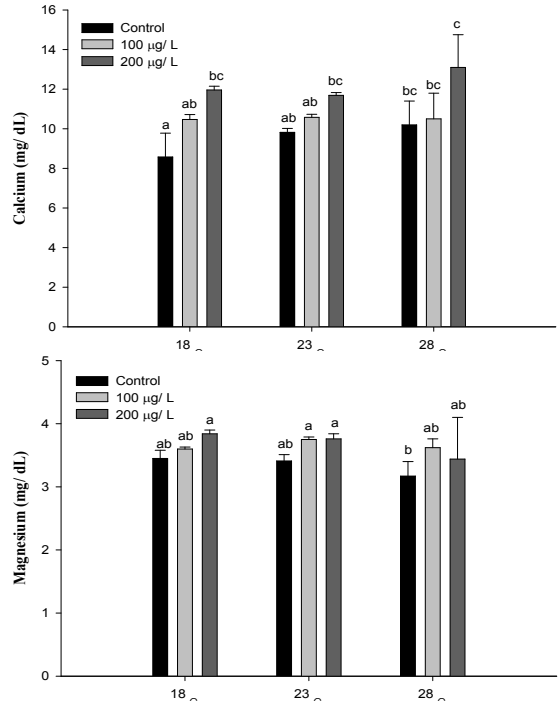


Fig. 2. Inorganic components in serum of *Sebastes schlegeli* exposed to the various concentration of copper at 18, 23 and 28°C for 4 days. Vertical bar denotes one standard deviation of the mean. Different letters indicate significant difference ($P<0.05$) between the groups.

을 보였다 ($P<0.05$). 이 때, 수온변화에 따른 ALT 값의 유의한 변동은 관찰되지 않았다. AST도 ALT와 마찬가지로 구리에 노출된 모든 개체에서 대조구에 비하여 유의하게 높은 효소활성 값을 보였으나, 특히, 대조구에서 수온이 28°C일 때 34.82 KU로, 18°C일 때 30.96 KU보다 높은 AST 값을 보였다 ($P<0.05$). 구리에 노출된 후, 조피볼락의 혈청 LDH (IU/L) 활성도 ALT와 마찬가지로 수온변화에 따라서는 유의한 차이가 없었으나, 100과 200 µg/L 모든 구리 노출구간에서 유의한 증가가 관찰되었다.

수온 변동에 따른 cortisol (ng/mL) 농도를 측정 한 결과, 대조구에서 18°C 구간과 비교하여 23°C 와 28°C에서 유의하게 증가하였다 (Fig. 5). 구리 노출에 따른 cortisol 농도는 수온이 18°C일 때는 200 µg/L 구간만이 유의한 증가를 보였으나, 23°C 와 28°C일 때는 구리에 노출된 전 구간에서 현저

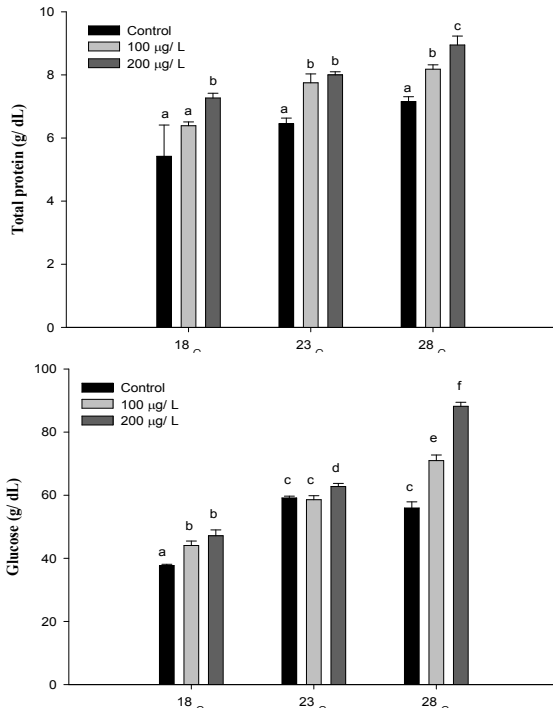


Fig. 3. Organic components in serum of *Sebastes schlegeli* exposed to the various concentration of copper at 18, 23 and 28°C for 4 days. Vertical bar denotes one standard deviation of the mean. Different letters indicate significant difference ($P<0.05$) between the groups.

한 cortisol의 증가를 보였다 ($P<0.05$).

고찰

구리 (Cu)는 척추동물 내 다양한 생물학적 반응을 수반하는데 필수적인 요소로 이온수송과 산화효소반응 및 헤모글로빈 합성에 관여하기도 하지만, 어류에는 상당한 독성을 발휘하는 것으로 알려져 있다 (Carvalho and Fernandes, 2006). 수계환경에서의 구리의 독성은 여러 가지 요인과 복합적으로 관련되어 있으며, 특히 수질의 물리·화학적 특성에 따라 다르다 (Takasusuki et al., 2004). 해수의 경도, 알칼리도 및 pH는 구리의 생분해에 많은 영향을 끼치며 이로 인해 어류의 흡수 및 어류의 생체 내 이용효율 (bioavailability)에도 영향을 준다 (Tao et al., 2000). 특히, 열대 및 아열대 지방의 높은 수온은 구리의 확산 및 화학적 반응을 증가

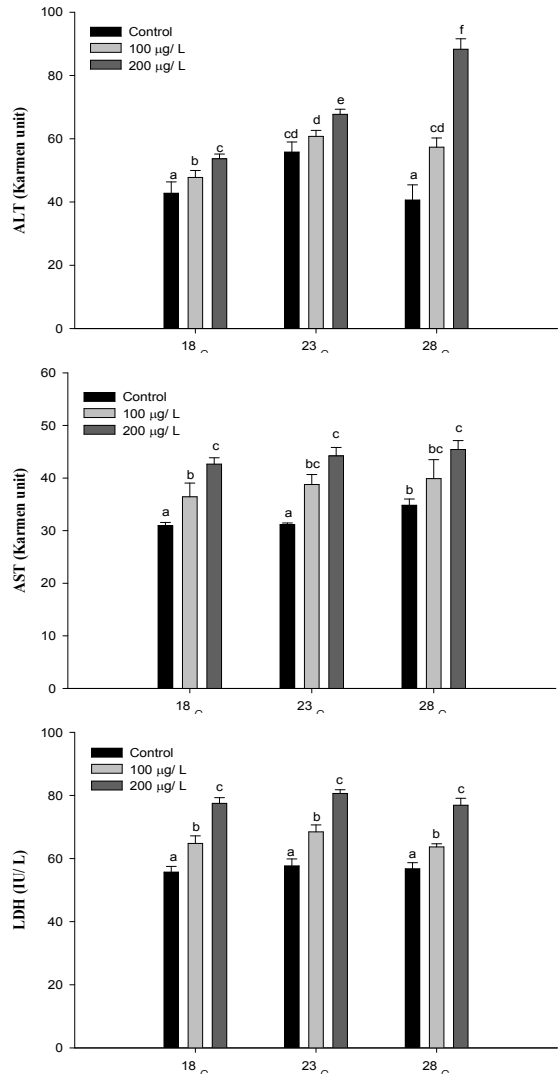


Fig. 4. Enzymes activities in serum of *Sebastes schlegeli* exposed to the various concentration of copper at 18, 23 and 28°C for 4 days. Vertical bar denotes one standard deviation of the mean. Different letters indicate significant difference ($P<0.05$) between the groups.

시키며, 수중 환경 내 불균형을 초래하여 다른 중금속과 함께 구리의 독성을 더욱 유발하는 것으로 보고된 바 있다 (Raynolds and Casterlin, 1980).

혈액학적 지표들은 유해화학물질에 노출 시 빠르게 반응하는데, 이러한 혈액학적 변화는 중금속에 노출된 어류의 신장 기능의 장애 및 조혈기간의 손상을 의미하며, 따라서 어류의 혈액학적 연

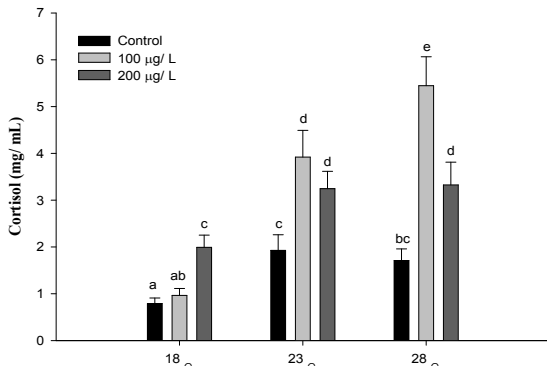


Fig. 5. Cortisol levels in serum of *Sebastes schlegeli* exposed to the various concentration of copper at 18, 23 and 28°C for 4 days. Vertical bar denotes one standard deviation of the mean. Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$) between the groups.

구는 환경의 오염 수준을 감시하는 유용한 수단으로 이용되고 있다 (Witters et al., 1990).

본 연구에서는 조피볼락 (*S. schlegeli*)의 혈액 및 혈청에서 수온변화에 따른 구리 (CuSO_4)의 독성을 확인하였다. 혈액성상의 변화는 RBC 계수, Ht 및 Hb 농도를 조사하였는데, RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)는 구리 노출 이후 감소하는 경향을 보였으나, 수온에 따른 변화는 보이지 않았다. Ht (%)는 수온이 28°C로 높았을 때에만 200 µg/L 구간에서 유의한 감소가 관찰되었으나, Hb (g/dL)은 수온변화 및 구리 노출에 따른 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 이는 Gail et al. (1995)의 연구에서, 29°C에서 400 µg/L 구리에 노출되었을 때, Mozambique tilapia의 RBC와 Ht는 감소하고, Hb는 변화 없었던 결과와 유사하다. Carvalho and Fernandes (2006)의 연구에서는 Neotropical fish, *Prochilodus scrofa*의 RBC 수치가 수온이 20°C일 때는 구리 노출 후에 증가하는 경향을 보였으나, 30°C일 때는 유의한 감소를 보여 본 연구 결과와 유사하다. 이 같은 RBC의 감소는 구리 노출로 인한 조혈조직의 장애 또는 RBC 용혈로 인한 빈혈이 원인인 것으로 판단된다 (Nemesok and Borss, 1982). Ht 값의 변동은 중금속에 의한 혈액의 pH 변동으로 세포의 삼투압에 영향을 미쳤기 때문으로, 체내 용혈로 인해 미성숙 적혈구가 발생하게 되면 Ht (%)가 감소하는 경향을 보인다 (Bhagwant and Bhikajee, 2000).

어류 혈청의 cortisol, glucose, total protein 및 전해질은 어체가 받는 스트레스의 지표로서 인정되고 있다 (Schreck, 1982). 혈청의 무기성분인 Ca과 Mg은 혈액 내 삼투압을 일정하게 유지하는 기능을 하며, 혈청 내 이온 조절은 주로 아가미와 신장에서 이루어지기 때문에 혈청 이온 농도변화 및 불균형은 생물체의 삼투압 조절 능력의 손상을 의미할 뿐 아니라 아가미와 신장의 손상을 의미한다 (Waring et al., 1992). 본 연구에서 혈청 Ca과 Mg 농도는 수온변화와 상관없이 200 µg/L 구간에서 증가하였다 (Fig. 2). Gail et al. (1995)의 연구에서도 수온변화와는 무관하게 구리 노출에 따른 혈장 Ca 농도의 증가를 보였고, 이는 구리와 같은 이가 양이온에 의해서 아가미에 의한 Ca의 흡수 및 재배치에 의한 것이라고 보고하였다.

구리는 주로 장점막을 통해서 체내로 흡수되며 장과 간 조직에 주로 축적되고, 포유류에서는 장에 의해 흡수된 구리는 혈청으로 배출되어 albumin과 복합체를 이룬 상태로 간에 의해 흡수된다 (Clearwater et al., 2000). 또한 어류가 독성물질에 노출되면 간체장의 손상 및 세노관 재흡수 기능 이상으로 인하여 혈청 내 total protein의 농도가 증가하는 경향을 보인다 (Vutukuru, 2005). 본 연구에서도 구리에 노출된 조피볼락의 혈청 total protein과 glucose가 증가하였는데, 특히 온도가 높을수록 유의한 증가를 보였다 (Fig. 3). 혈청 glucose의 증가는 스트레스 반응 시 나타나는 전형적인 2차 반응으로서 간의 glycogen 양의 고갈과 밀접한 관련이 있다. 노출 초기의 신속한 증가는 스트레스 반응에 의해 증가된 혈중 catecholamin에 의해 근육과 간에 저장된 glycogen이 glucose로 분해되는 과정 (glycogenolysis)이 일어났기 때문이며, 그 이후에 지속되는 것은 혈청 내 cortisol의 농도가 증가하여 이에 의한 단백질 신생합성 과정 (gluconeogenesis)이 일어났기 때문이다 (Robertson et al., 1987).

혈청 내 효소성분인 ALT와 AST 활성은 어류에 대한 독성물질의 모니터링 지표로 사용되고 있으며, 간, 심장 및 근육의 조직학적 손상이나 이상 발생시 혈중 농도가 높아지는 것으로 알려져 있다 (Takeda et al., 1964). 본 연구에서 보인 혈중 ALT

와 AST 증가도 이와 같이 구리에 의한 여러 장기의 조직학적 손상이 원인이라고 판단된다 (Fig. 4). LDH는 젖산을 분해하고 재합성하는 효소로, 스트레스 하에서 생성되는 젖산으로 인한 혈액의 산성화를 제어하는 기능을 한다. Chang et al. (2001)의 연구에서 수온 상승에 의해 넙치의 혈중 젖산 농도의 유의한 변화가 없었던 이유가, 본 연구에서 수온 상승에 따라 혈중 LDH 농도의 증가 때문인 것으로 사료된다 (Fig. 4).

스트레스는 어류의 catecholamin과 cortisol을 과다 분비하는 내분비 반응을 유도하여 비축된 에너지원의 빠른 소비를 유발하여, 어체의 건강에 영향을 미칠 수 있다 (Pickering, 1993). 여러 가지 스트레스 원인 중에 급격한 수온변화는 성장과 생존을 좌우하는 직접적인 스트레스로 작용한다 (Chang et al., 2001). Chang et al. (2001)은 해산어류의 안정된 상태, 즉 스트레스를 받지 않은 상태에서의 넙치, *Paralichthys olivaceus* 혈중 cortisol 농도는 2.7~5.2 ng/mL라고 보고하였고, 이상적인 어류의 cortisol 농도는 5 ng/mL 이하로 알려져 있다 (Pickering and Pottinger, 1989). 본 연구에서 구리에 노출되지 않은 조피볼락의 혈중 cortisol 농도는 0.9 ng/mL로, 다른 어류에서 나타난 결과에 비해서는 낮은 농도였다 (Fig. 5). 또한, 수온이 높을수록 cortisol의 농도가 증가하는 경향을 보였는데, 이는 Chang et al. (2001)의 쥐노래미 연구 및 Choi et al. (2006)의 감성돔의 연구와도 유사한 결과이다. 그러나, 이러한 연구는 단시간 내 급격한 수온의 변화에 의한 결과로, 스트레스 상황에 노출된 후 1시간 이내에 강한 cortisol 농도의 상승을 보이지만, 이와 같은 현상은 단지 몇 시간이 지나면 다시 회복된다고 알려져 있다 (Barton et al., 1980). 반면에 독성물질의 만성적인 노출 하에서는 cortisol의 농도가 지속적으로 높은 수치가 유지된다는 보고가 있다 (Pickering et al., 1984; Tort et al., 1996). 이는 본 연구에서 4일 동안 28°C에 노출되었음에도 불구하고 cortisol의 높은 수치가 유지되었던 것은 구리의 영향이었음을 시사한다 (Fig. 5). 한편, Chang et al. (1999)과 Park et al. (1999)의 연구에서는 수온변화와 무관하게 넙치의 변함없는 cortisol 농도는 다른 어종에 비해 넙치가 수온 급

변에 대한 강한 저항력을 가진 것으로 판단하였으며, 이는 종 특이성, 스트레스 조건의 차이 및 실험 시 어류의 생리상태 등 여러 가지 요인이 작용한 것이라고 보고하였다. 일반적으로 heat shock proteins으로 알려진 HSP90은 온도 스트레스에 의해 발현의 증가를 보이는데, 이는 혈장 cortisol 증가와 연관되어 있다 (Choi et al., 2006). 본 연구에서 cortisol 농도가 4일 동안 cortisol의 높은 수치가 유지되었던 것은 수온변화에 의한 1차적 증가 및 이후의 지속적인 구리 노출의 영향인 것으로 사료된다. 즉, 단순히 독성물질에 노출되었을 때보다 수온 상승이 동반되었을 때, 스트레스를 더 크게 받은 것으로 판단되며, 이에 따라, 혈액 및 혈청 성분의 변동을 초래한 것으로 보인다.

요 약

구리 (CuSO_4)는 양식현장에서 부착 및 병원생물 억제 용도로 광범위하게 사용되고 있으나, 구리의 독성은 그 물질의 농도뿐만 아니라 수온에 의해서도 영향을 받는다. 본 연구에서는 조피볼락, *Sebastes schlegeli*에서 수온변화 (18, 23 및 28°C)에 따른 구리의 독성을 혈액 및 혈청학적 요소로 평가하였다. 4일 동안 구리 (100 및 200 $\mu\text{g/L}$)에 노출 시킨 후, 조사한 적혈구 수와 hematocrit 수치는 28°C에서 유의한 상승을 보였고, total protein 농도는 온도가 증가함에 따라 glucose 농도와 함께 증가하는 경향을 보였다 ($P < 0.05$). 그러나, 혈청 Ca와 Mg은 수온변화와 무관하게, 200 $\mu\text{g/L}$ 구리에서 유의한 증가를 보였다. ALT와 LDH와 같은 혈청 효소농도도 구리를 처리한 구간에서만 유의한 상승을 보였다. 이 결과는 혈청 무기 성분과 효소활성이 구리 노출에 따른 민감한 지표가 될 수 있음을 시사한다. 구리 (100 및 200 $\mu\text{g/L}$)에 노출된 조피볼락의 혈청 cortisol 수치는 농도 및 수온 증가에 따라 현저한 증가를 보였다. 즉, 이러한 변화는 수온 스트레스에 대한 초기 반응이 구리 노출에 따라 지속되었음을 의미한다. 결론적으로, 구리에 단독으로 노출되었을 때보다 수온 상승이 동반되었을 때, 혈액 및 혈청 유기성분 및 cortisol의 변동이 더욱 가속된 것으로 보인다.

References

- Ahn, T.Y., Jeong, D.S., Kim, J.H. and Kang, J.C.: Changes of Hematological constituents in the Mullet, *Mugil cephalus* exposed to Chromium. J. Fish Pathology, 26(2): 89-97, 2013.
- Barton, B.A., Schreck, C.B. and Barton, L.D.: Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. Dis. Aquat. Org. 2: 172-185, 1980.
- Bhattacharya T., Ray A.K. and Bhattacharya S.: Blood glucose and hepatic glycogen. Interrelationship in *Channa punctatus*(Bloch). A parameter of non-lethal toxicity bioassay with industrial pollutants. Indian J. Exp. Biol. 25: 539-541, 1987.
- Carvalho, C.S. and Fernandes, M.N.: Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. Aquaculture, 251: 109-117.
- Chang, Y.J., Park, M.R., Kang, D.Y. and Lee, B.K.: Physiological responses of cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) on series of lowering sea-water temperature sharply and continuously. J. Korean Fish. Soc., 32: 601-606, 1999.
- Chang, Y.J., Hur, J.W., Kim, H.K. and Lee, J.K.: Stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) and fat cod (*Hexagrammos otakii*) by the sudden drop and rise of water temperature. J. Korean Fish. Soc., 34(2): 34(2): 91-97, 2001.
- Chang, Y.J., Hur, J.W. and Chin, P.: Hematological characteristics of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in culture farm influenced by heated effluent water from a power plant in summer. J. Aquaculture, 15(4): 267-273, 2002.
- Choi, C.Y., Min, B.H., Kim, N.N., Cho, S.H. and Chang, Y.J.: Expression of HSP90, HSP70 mRNA and changes of plasma cortisol and glucose during water temperature rising in freshwater adapted back porgy, *Acanthopagrus schlegli*. J. Aquaculture, 19 (4): 315-322, 2006.
- Clark, R.B.: Metals. In: Marine pollution. Oxford University Press, Oxford, New York, pp. 74-77, 1996.
- Claerwater, S.J., Baskin, S.J., Wood, C.M and McDonald, D.G.: Gastrointestinal uptake and distribution of copper in rainbow trout. J. Exp. Biol. 203: 2433-2466, 2000.
- Gail, N., J.H.J. Van Vuren and du Preez, H.H.: Effect of copper on the haematology and osmoregulation of the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). Comp. Biochem. Physiol. 111C(3): 369-380, 1995.
- Gamperl, A.K., Vijayan, M.M. and Boutilier, R.G.: Experimental control of stress hormone levels in fishes: techniques and applications. Rev. Fish Biol. Fish, 4:215-255, 1994.
- Hwang, U.G., Kim, J.H. and Kang, J.C.: Changes of growth and hematological constituents in the Rock bream, *Oplegnathus fasciatus* exposed to TBT. J. Fish Pathol., 26(3): 219-229.
- Linde, A.R., Klein, D. and Summer, H.: Phenomenon of hepatic overload of copper in *Mugil cephalus*: Role of metallothionein and patterns of copper cellular distribution. Bas. Clin. Pharm. Toxicol., 97: 230-235, 2005.
- Logue, J.P.T. and Cossins, A.R.: Heat injury and resistance adaptation in fish. J. Ther. Biol., 20:191-197, 1995.
- Milligan, L.C. and Wood, C.M.: Disturbances in hematology, fluid volume distribution and circulatory function associated with low environmental pH in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J Exp Biol, 99: 397-415, 1982.
- Min, E.Y., Jee, J.H., Kim, D.J. and Kang, J.C.: Tributyltin-oxide (TBTO) induced Changes in Plasma Sex Steroid Hormones and Cortisol Level of Korean Rockfish, *Sebastes schlegeli*. J. Aqua. 17(3): 161-166, 2004.
- Nemicsok J. and Boross L.: Comparative studies on the sensitivity of different fish species to metal pollution. Acta Biol. Hung. 33: 23-27. 1982.
- Park, M.Y., Chang, Y.J. and Kang, D.Y.: Physiological response of the cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) to the sharp changes of water temperature. J. Aquaculture, 12(3): 221-228, 1999.
- Park, K.Y., Lee, D.J., C.H. Won, D.H., Lee, W.H. and Kwak, I.S.: Studies on endpoints of toxicological evaluation of heavy metals in *Brachinella kugenumaensis*. J. Environ. Toxicol., 24(3): 241-249, 2009.
- Pickering, A.D. and Stewart, A.: Acclimation of the interregal tissue of the brown trout *Salmo trutta* L., to chronic crowding stress. J. Fish Biol., 24: 731-740, 1984.
- Pickering, A.D.: Growth and stress in fish population. Aquaculture, 111: 51-63, 1993.

- Reynolds, W.W. and Casterlin, M.E.: The role of temperature in the environmental physiology of fishes. In: Ali, M.A. (Ed.), Environmental physiology of fishes. Plenum Press, New York, pp. 497-518, 1980.
- Robertson, L., P. Thomas, C.R. Arnold and Trant, J.M.: Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling transport, rearing density, and disease outbreak. *Prog. Fish-Cult.*, 49: 1-12, 1987.
- Rojik, I., Nemcs'OK, J. and Boross, L.: Morphological and biochemical studies on liver, kidney and gill of fishes affected by pesticides. *Acta Biologica Hungarica*, 34: 81-92, 1983.
- Ryan, S.N.: The effect of chronic heat stress on cortisol levels in the Antarctic fish *Pagothenia borchgrevinki*. *Experientia*, 51: 768-774, 1995.
- Schreck, C.B.: Stress and rearing of salmonids. *Aquaculture*, 28: 241-240, 1982.
- Seong, K.T., Hwang, J.D., Han, I.S., Go, W.J., Suh, Y.S. and Lee, J.Y.: Characteristic for long-term trends of temperature in the Koreans waters. *J. K. Soc. Mar. Environ.*, 16(4): 353-360, 2010.
- Shin, Y.K., Park, J.J., Lim, H.S. and Lee, J.S.: Copper toxicity of survival, respiration and organ structure of *Mactra veneriformis* (Bivalvia: Mactridae). *K. J. Malacol.* 29(2): 129-237, 2013.
- Takasusuki, J., Araujo, M.R.R. and Fernandes, M.N.: Effect of water pH on copper toxicity in the neotropical fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodondidae). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 72: 1075-1082, 2004.
- Takeda, Y., Ichihara, A., Tanioka, H. and Inoue, H.: The biochemistry of animal cells: I. The effect of corticosteroids on leakage of enzymes from dispersed rat liver cells. *J. Biol. Chem.* 239: 3590-3596, 1964.
- Tao, S., Long, A., Liu, C. and Dawson, R.: The influence of mucus of copper speciation in the gill microenvironment of carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 47: 59-64, 2000.
- Tort, L., Kargacin, B., Torres, P., Giralt, M. and Hidalgo, J.: The effect of cadmium exposure and stress on plasma cortisol, metallothionein levels and oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. *Comp. Biochem. Physiol.*, 114C: 29-34, 1996.
- Tucker, C.S.: Water quality. In: Channel catfish culture. Ed. C.S. Tucker. Elsevier, Amsterdam, pp. 135-227, 1985.
- Vutukuru, S.S.: Acute effects of hexavalent chromium on survival, oxygen consumption, hematological parameters and some biochemical profiles of the Indian major carp, *Labero rohita*. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2: 456-462, 2005.
- Waring C.P., Stagg R.M., and Poxton M.G.: Physiological responses to handling in the turbot. *J. Fish Biol.* 48: 161-173, 1996.
- Witters, H.E., Van Puymbroeck, S., Van Den Sande, I., and Vanderborght, O.L.J.: Haematological disturbances and osmotic shifts in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (walbaum) under acid and aluminum exposure. *J. Comp. Physiol.*, 160B: 563-571, 1990.
- Xiuling, J.I., Qunhui, S., Fang, L., Jing, M., Gang, X., Yuanlong, W. and Minghongm, W.: Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai, China. *J. Hazard. Mat.*, 235-236: 178-185, 2012.

Manuscript Received : February 13, 2014

Revised : March 25, 2014

Accepted : March 28, 2014