KOREAN JOURNAL OF ICHTHYOLOGY, Vol. 28, No. 1, 1-8, March 2016
ISSN: 1225-8598 (Print), 2288-3371 (Online)

Received: February 29, 2016
Revised: March 15, 2016
Accepted: March 18, 2016

저수온 스트레스에 따른 능성어(*Epinephelus septemfasciatus*) 혈액의 생리생화학적 반응

*박종연 · 박재민[1] · 홍창기[2] · 김경민[2] · 조재권**

국립수산과학원 양식관리과, [1]경상북도 토속어류산업화센터, [2]남해수산연구소 해역산업과

Physiological and Biochemical Response of Blood on Low Temperature Stress in Sevenband Grouper, *Epinephelus septemfasciatus* by Jong Youn Park, Jae Min Park[1], Chang Gi Hong[2], Kyong Min Kim[2] and Jae Kwon Cho* (Aquaculture Management Division, Aquaculture Research Institute, NIFS, Busan 46083, Korea; [1]Gyeongsangbuk-Do Native Fish Business Center, Uiseong 37366, Korea; [2]Southwest Sea Fisheries Research Institute, NIFS, Yeosu 89780, Korea)

ABSTRACT This study was conducted to investigate the physiological responses of sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* at low temperature condition in winter season. Water temperature was dropped from 12°C to 5°C by two different interval (interval I: −1°C/24 h and interval II: −1°C/8 h). The experimental fishes were exposed for 9 days at each water temperature condition, and were observed survival rate. The blood sample was collected from fishes for analysis of cortisol, glucose, total protein (TP), and electrolytes (Na^+, Cl^-, K^+). Mortality of fish was not observed until 5°C. The mortality (12 individuals) began after 170 h and all fish were death after 174 h in interval I case, whereas the mortality (9 individuals) began after 72 h and all fish were death after 76 h in interval II case. Little different was observed in the physiological responses, but trend was similar between two intervals. The physiological metabolism of plasma cortisol and glucose were increased rapidly, and swimming ability and respiration response was faster at 7°C. This result means that the critical temperature of sevenband grouper was 7°C at low water temperature condition.

Key words: Physiological activity, sevenband grouper, low temperature stress, survival, cortisol, glucose

서 론

수온은 어류의 체내 대사활동을 결정하는 가장 중요한 환경조절 인자로 어체의 면역능력, 섭이, 성장 및 생존에 큰 영향을 미치므로 특정 해역에 서식하는 어류 개체군의 분포, 번식과 더불어 생산량에 영향을 미치는 중요한 변수로 알려져 있다(Barton and Iwama, 1991; Jeon *et al*., 1995; Fry, 1997). 개방된 환경에 서식하는 어류의 경우 급격한 수온 변화에 능동적으로 대처할 수 있는 기회를 가질 수 있지만, 인위적으로 폐쇄된 수계에서 양식되고 있는 어류는 이동이 제한되어 있기 때문에 심한 수온 충격에 노출될 경우 체내 항상성 상실에 따른 생리적 장애로 급격한 스트레스를 받고, 성장 저하는 물론 대량폐사로 경제적인 손실이 발생한다(Hur and Habibi, 2007; Kang *et al*., 2007).

수온 변화에 따른 어류의 생리학적 스트레스 반응 지표로는 혈액학적 인자들이 이용되고 있다(Adam, 1990; Santos and Pacheco, 1996; Cataldi *et al*., 1998). 이중 가장 대표적으로 사용되고 있는 지표 인자는 혈장 코티졸(plasma cortisol)과 글루코스(plasma glucose)로, Cortisol은 어류가 급격한 환경변화에 노출되었을 때 발생하는 1차 반응으로 생성되는 호르몬이며(Specker *et al*., 1989; Perry and Reid, 1993), GLU는 Cortisol의 작용으로 인해 분비량이 증가하는 2차 반응에 의한 것이다(Davis and Parker, 1990; Barton and Iwama, 1991). 그 외에 체내 항상성 유지를 위한 에너지 생성과 관련된 혈중 TP (total protein), 간 기능성 대사효소인 ALT (alanine aminotransferase),

*Corresponding author: Jea Kwon Cho Tel: 82-51-720-2420, Fax: 82-51-720-2419, E-mail: jkcho123@korea.kr

AST (aspartate aminotransferase) 및 전해질 (Na^+, K^+, Cl^-)도 혈중 스트레스 지표로 이용되고 있는 것으로 알려져 있다 (Davis and Parker, 1990).

능성어, *Epinephelus septemfasciatus*는 우리나라 남해안과 제주도, 중국 및 일본 연안에 서식하고 있는 어류로, 주로 중화권을 중심으로 고가로 판매되고 있어 산업적으로 중요한 양식 대상종으로 알려져 있다 (Song *et al*., 2008; Kim *et al*., 2012). 최근 우리나라에서도 능성어 대량종묘생산 기술이 확립됨에 따라 부가가치가 높아지는 어종 중 하나이다. 바리과에 관한 연구로는 능성어의 번식생물학적 연구 (Kim *et al*., 1997), 초기 생활사 (Park *et al*., 2014), 골격형태발달 (Park *et al*., 2015), 난발생 및 수온과 염분의 영향 (Cho *et al*., 2015), 배란유도 (Hong *et al*., 2015), 붉바리의 성숙과 성전환 (Lee *et al*., 1998), 자바리의 난발생 (Yang *et al*., 2007), 홍바리의 정자 미세구조 (Kim *et al*., 2012) 등의 연구가 수행되었지만, 실제 양성 조건에 관한 연구는 없다. 능성어는 아열대성 어류로 겨울철에 해상가두리에서 실제 양식에 필요한 생물 특성에 대한 양성 수온 범위에 관한 연구가 매우 중요하다. 또한 최근 우리나라에서 능성어 대량종묘생산 기술이 확립됨에 따라 겨울철 월동양식을 위한 적지 선정이 시급한 실정이다.

본 연구에서는 최근 고부가가치의 양식산업종으로 부각되고 있는 능성어를 대상으로, 겨울철 해상가두리 양식장에서 안정적인 월동양식과 폐사의 원인규명을 위한 생리생화학적인 반응을 조사하여 저수온 스트레스에 대한 생리학적 지표설정의 기초자료로 활용하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험어

실험에 사용된 능성어는 전라남도 여수시 거문도에 위치한 해상가두리 (5×5×5 m)에서 2012년 7월에 인공수정하여 사육된 미성어로 평균 전장 19.4±0.60 cm, 평균 중량 174.6±10.80 g이었다. 생존율 실험 및 시료분석용으로 사용한 개체는 각각 20마리, 50마리로 수온 하강 실험 간격별로 140마리이며, 2반복을 하여 총 240마리를 실험에 사용하였다. 실험어는 여수 연안 자연수온이 12°C로 하강한 시점인 11월 28일을 기준으로 실험 개시 전까지 해수열원히트펌프 (Co. Il-Jin, E-Plus, Korea)를 사용하여 12°C로 유지하며 순치시킨 후 사용하였다.

2. 실험환경 및 방법

저수온에 따른 생존율 및 스트레스 수온 하강은 24시간 간격으로 1°C씩 하강시키는 장기 하강 조건 (Exp. I, −1°C/24 hr)과 8시간 간격으로 1°C씩 하강시키는 단기 하강 조건 (Exp. II, −1°C/8 hr)으로 구분하였고 두 실험구 모두 12°C를 대조구로 4°C까지 하강시켰다. 염분농도는 32.4~33.1‰ (평균 32.8±0.12‰), 용존산소량 (DO)은 7.5~9.2 ppm을 유지하였다. 각 실험구는 수온조절장치를 이용하여 수온을 일정하게 유지하여 유수식 (1일 5회전)으로 9일간 절식하며 실험하였다. 총 8개의 1톤 용량 수조 (Poly propylen, ϕ 1.0 m×H 1.2 m)에서 생존율 실험 4개 수조와 시료분석용 4개 수조를 준비하여 2반복 실험을 실행하였다. 각 수온 실험구별 실험어는 5마리×2반복 (n=10/group)으로 무작위 추출하여 혈액성상 분석에 이용하였다.

3. 생존율

사육 수온이 1°C 하강하는 시점에서 죽은 개체를 파악하여 이로부터 누적 생존율을 구하였다. 실험어의 폐사 확인은 실험어가 수조 저면에 유영능력을 상실하여 어체가 측편된 상태에서 1분 이상 아가미의 호흡활동을 중지한 개체를 선택하여 조사하였다.

4. 생리생화학적 분석

수온이 1°C씩 하강하는 시점에 헤파린 처리한 주사기 (1 mL)를 사용하여 마취 없이 1분 이내에 실험어의 미부동맥으로부터 혈액을 채취하였다. 채혈된 실험어는 별도의 회복수조에 수용하여, 다음 샘플 시점에 반복 채혈되는 것을 피했다. 채취한 혈액은 원심분리 (12,000 rpm, 5분)하여 혈장을 추출하였으며, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), glucose (GLU), total protein (TP) 및 Cortisol 분석 시까지 −70°C에서 보관하였다. 분석 항목에 따라 분석용 kit 슬라이드를 사용하여 자동 생화학 분석기 (FUJI DRI-CHEM 3500i Co. Fujifilm, Japan)로 측정하였고, 혈장 cortisol은 cortisol EIA kit (Oxford, USA)를 사용하여 효소면역분석 (enzyme immunoassay, ELA)으로 측정하였으며, inter-assay coefficients of variation (CV) 및 intra-assay CV는 각각 12.8% 및 9.5%이었다.

5. 통계분석

본 실험에서 얻어진 혈액 생리생화학적 검사 등 자료에 대한 통계학적 분석은 SPSS 통계프로그램 (ver. 17.0)을 사용하여 one way-ANOVA test를 통한 Duncan's multiple range test로 평균 간의 유의성을 검정하였다 ($P<0.05$).

결 과

1. 생존율

Exp. I에서는, 실험 시작 후 사육 수온이 6.0°C가 유지된 144

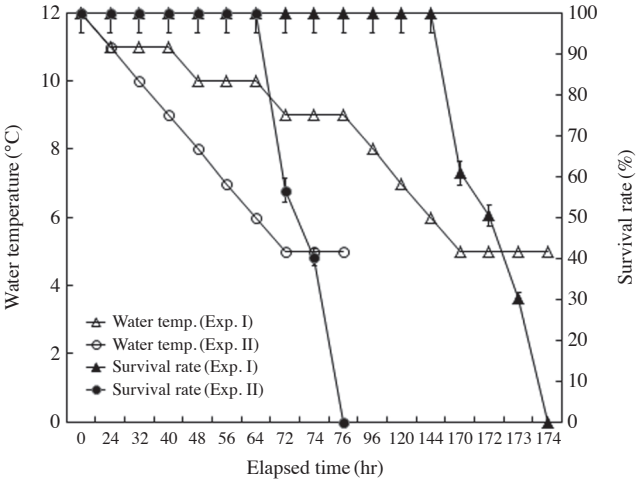

Fig. 1. Survival rate of sevenband grouper in Exp. I (−1°C/24 hr) and Exp. II (−1°C/8 hr) decreased temperatural conditions.

시간까지 생존율에 변화가 관찰되지 않았다. 사육수온이 5°C로 하강한 후 2시간 경과 시(170시간) 생존율은 60.8%를 나타냈고, 5시간 경과 시(173시간)에는 30.2%가 생존하였으며 6시간 경과 후(174시간)에는 실험어가 전량이 폐사하였다. Exp. II에서는 실험 시작 후 5.0°C로 하강시킨 후(72시간) 생존율은 56.6%를 나타냈고, 2시간 경과 시(74시간)부터 생존율이 40.3%로 급격히 감소하였으며 4시간 경과 후(76시간)에 실험어가 전량 폐사하였다(Fig. 1).

2. AST 및 ALT 활성

저수온에 스트레스의 정도를 확인하기 위하여 간 기능성 대사효소인 AST (aspartate transaminoferase)와 ALT (alanine transaminoferase)의 활성을 조사한 결과 AST의 농도는 12°C 대조구는 40.64±10.67 u/L를 나타내었지만, Exp. I의 경우 42.72±14.55~64.20±14.24 u/L, Exp. II의 경우 47.44±29.50~67.35±10.05 u/L로 실험구별 통계적인 차이는 없었다. ALT의 농도의 12°C 대조구는 7.49±1.15 u/L를 나타내었지만, Exp. I 경우 7.51±2.15~9.39±1.61 u/L, Exp. II의 경우 7.34±1.13~11.61±4.85 u/L로 시험구별 통계적인 차이는 없었다 (Fig. 2).

3. 혈장 코티졸, 글루코스 및 총단백질

코티졸의 12°C 대조구는 78.64±1.05 ng/mL로 나타났으며, Exp. I의 경우 11°C부터 상승하기 시작하여 7°C에 118.19±17.55 ng/mL으로 가장 높은 값을 나타났으며, 5°C에 103.88±5.79 ng/mL로 감소하는 경향이 나타났다. 대조구와 비교하여 11°C부터 실험종료인 5°C까지 유의적으로 높은 값을 나타내었다. Exp. II의 경우 11°C부터 상승하여 6°C에 145.43±5.73

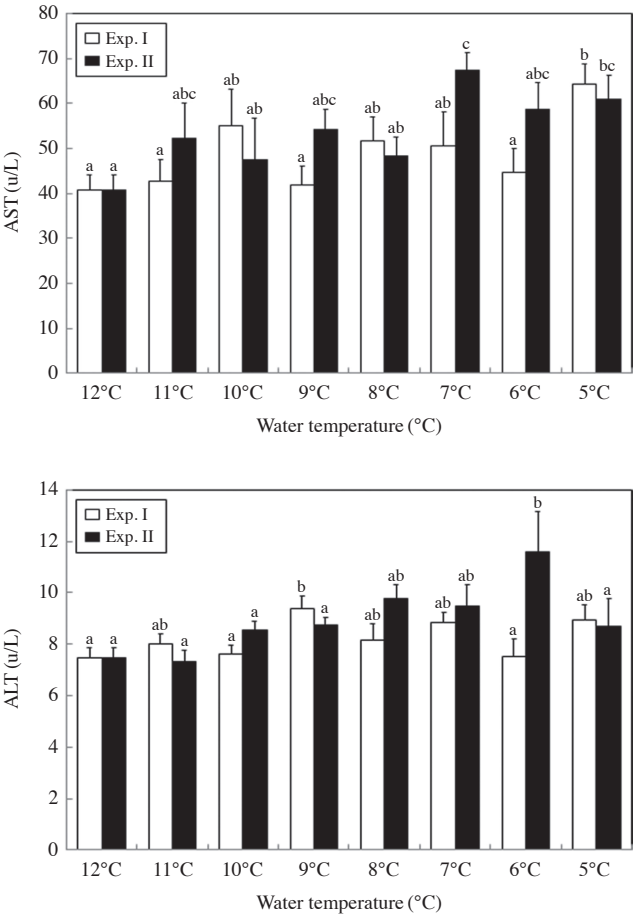

Fig. 2. Changes of AST and ALT in plasma of cultured sevenband grouper in Exp. I (−1°C/24 hr) and Exp. II (−1°C/8 hr) decreased temperatural conditions.

ng/mL으로 가장 높은 값을 나타났으며, 5°C에 133.27±6.55 ng/mL로 감소하였지만 대조구보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 특히 8시간 간격으로 하강시킨 Exp. II은 24시간 간격으로 하강시킨 Exp. I보다 유의적으로 더 높은 값을 나타내었다($P<0.05$). 혈장 글루코스의 12°C 대조구는 63.97±9.97 mg/dL의 범위로 나타났고, Exp. I의 경우 11°C부터 상승하기 시작하여 5°C에 117.57±20.75 mg/dL로 가장 높은 값을 나타내었으며, Exp. II의 경우도 상승하기 시작하여 7°C에 130.33±18.34 mg/dL로 가장 높은 값을 나타내었으며, 5°C에 122.83±9.48 mg/dL로 대조구보다 유의하게 높은 값을 나타내었다. Exp. II의 경우 Exp. I의 실험보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다($P<0.05$). 반면 총단백질의 대조구 농도는 5.25±0.36 mg/mL였으나, Exp. I의 경우 11°C부터 감소하여 5°C에 3.07±1.76 mg/mL으로 대조구보다 유의하게 낮은 값을 나타내었으며, Exp. II의 경우 6°C에 2.55±1.36 mg/mL로 가장 낮은 값을 나타내었으며, 5°C에 3.90±1.95 mg/mL 대조구보다 유의하게 낮은 값을 나타내었다(Fig. 3, $P<0.05$).

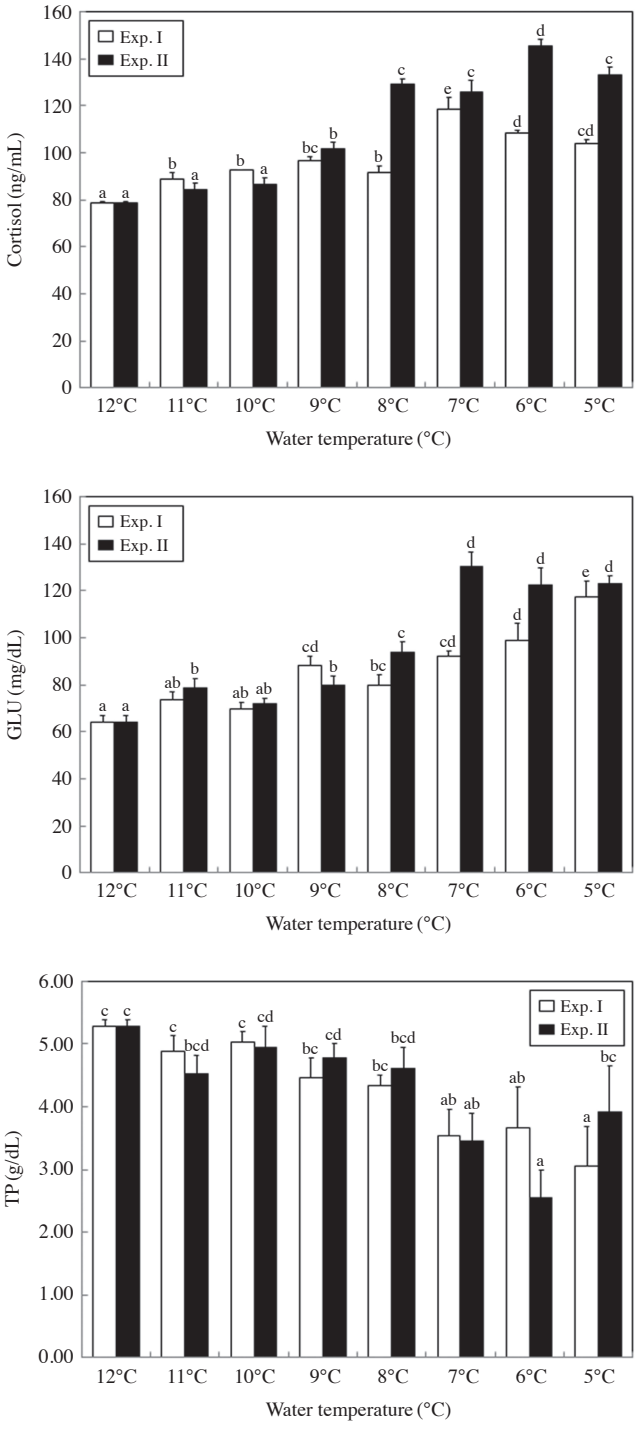

Fig. 3. Changes of Cortisol, GLU and TP in plasma of cultured sevenband grouper in Exp. I (−1°C/24 hr) and Exp. II (−1°C/8 hr) decreased temperatural conditions.

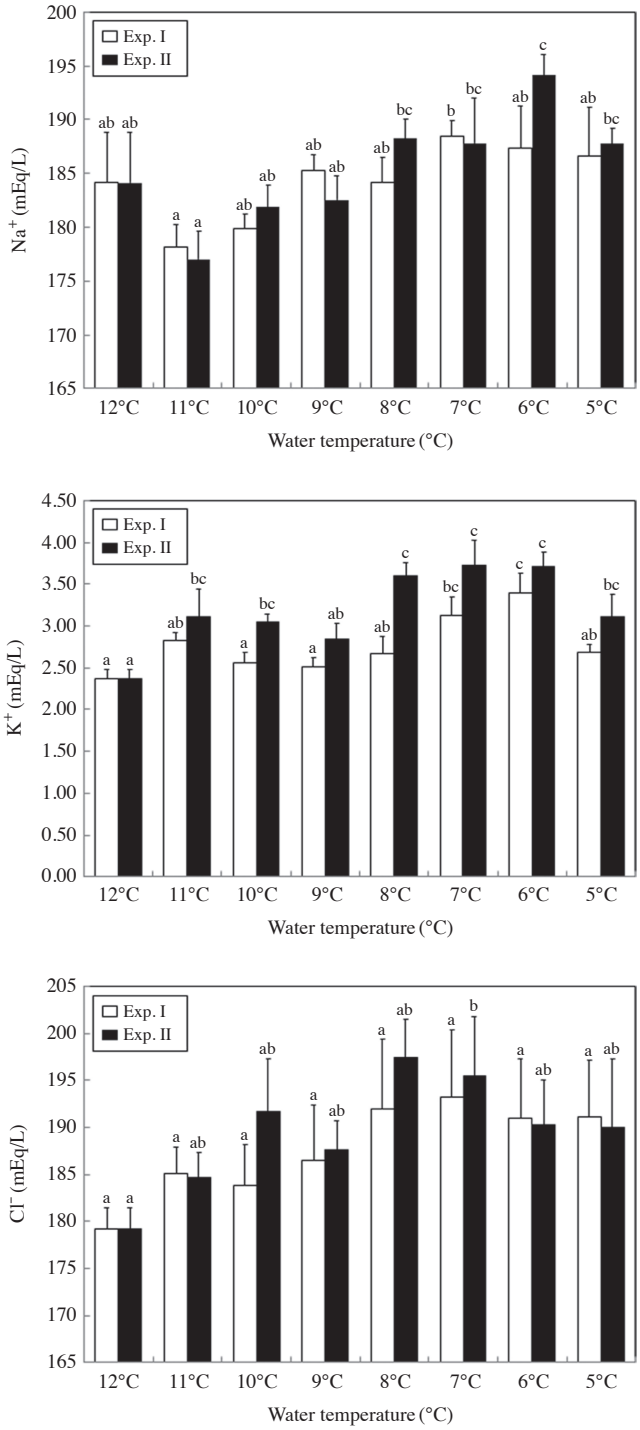

Fig. 4. Changes of Na^+, K^+, Cl^- in plasma of cultured sevenband grouper in Exp. I (−1°C/24 hr) and Exp. II (−1°C/8 hr) decreased temperatural conditions.

4. 혈장의 Na^+, K^+ 및 Cl^-

저수온 스트레스에 의한 Na^+의 12°C 대조구 농도는 184.13 ± 14.79 mEq/L를 나타내었지만 Exp. I의 경우 그룹 간의 통계적인 차이는 없었고, Exp. II의 경우 11°C에 177.02 ± 8.38 mEq/L로 감소하였지만 10°C부터 증가하는 경향을 보이며 5°C에 187.86 ± 4.61 mEq/L로 유의적으로 높은 값을 나타내었다 ($P < 0.05$). K^+의 12°C 대조구 농도는 2.38 ± 0.36 mEq/L로

모든 실험에서 대조구 11°C부터 실험종료인 5°C까지 대조구와 비교하여 유의적으로 높은 값을 나타내었다($P<0.05$). 반면 12°C 대조구의 Cl^-의 농도는 179.22±6.82 mEq/L를 나타내었지만, Exp. I의 경우 183.09±13.95~191.99±23.30 mEq/L, Exp. II의 경우 184.63±8.35~197.48±12.68 mEq/L로 그룹 간의 통계적인 차이는 없었다(Fig. 4, $P>0.05$).

고 찰

일반적으로 환경 요인 중에서 수온은 어류와 같은 변온동물에게 다양한 영향을 미치는데, 환경 변화에 따라 받는 스트레스를 어느 정도 극복하지만, 임계수준을 넘어서면 어류의 생리활성이 떨어져 건강도를 약화시킬 수 있다(Barton and Iwama, 1991). 최근 우리나라 남해 연안해역의 평균 수온은 동해나 서해보다 높은 범위를 나타내고 있으나 겨울철 저수온기에는 최저 5~6°C까지 하강하는 특성을 보여 이동이 불가능한 가두리와 같은 폐쇄된 환경에서 양성되는 양식어류는 수온 스트레스를 입는 경우가 빈번히 발생하고 있다. 이러한 저수온 스트레스는 면역력 약화, 섭이율 저하, 성장지연, 영양상태 악화가 일어나고, 체내 대사생리가 변하게 되며 심하면 폐사에 이르기도 한다(Park *et al*., 2011). 특히 연안 해역 가두리에서 능성어를 월동시킬 경우 겨울철 급변하는 해양환경으로 인한 대량폐사 등의 문제점을 안고 있다. 따라서 능성어가 급격한 저수온 조건에 노출되었을 때 생존 가능한 임계 하한수온이나 환경 변화에 대한 체내 생리적 반응에 관한 연구가 절실하게 요구된다.

본 연구에서는 최근 고부가가치의 양식생물로 주목받고 있는 능성어를 대상으로 저수온 스트레스로 인한 생리적 반응을 조사하였다. 저수온 내성을 위한 생존율을 보면 Exp. I 구간의 경우 사육수온 5°C로 하강한 후 170시간째 12마리의 폐사를 시작으로 174시간째에 전 개체 폐사하였다. 반면 Exp. II 구간의 경우 5°C로 하강한 후 72시간째 9마리의 폐사를 시작으로 74시간째 생존율 40.3%를 나타내었으며 76시간째 전 개체가 폐사하였다. 이는 두 실험 모두 수온 하강 간격 조건별로 5°C에 이르자 전량 폐사하는 것으로 보아, 저수온 스트레스로 인한 생리적 한계와 임계수온은 5°C로 추정된다. 또한 Exp. I 구간이 Exp. II 구간보다 생존율이 약간 높게 나타나 수온 하강 시간이 길수록 생리적 순응력이 높아 생존율이 높아지는 것으로 추정된다.

능성어를 대조구(12°C)로부터 수온 하강 시 어류는 수온별로 이상행동을 보였다. So *et al*. (2008)은 수온 하강 시 무지개송어가 10°C까지 유영능력이 빨라지다가 5°C로 감소했을 경우 운동성이 둔화된다고 밝혀졌다. 본 연구에서 능성어는 수온이 8°C로 하강된 후부터 유영속도가 점차 느려졌고, 7°C에서는 유영능력과 몸체의 중심을 잃었고, 어체가 수조 바닥에 측편된 상태가 지속되었으며 아가미 개폐운동이 점차 빨라졌다. 또한 체표에 무늬가 뚜렷하지 않았으며 점액분비가 많아지는 것이 관찰되었다. 이런 반응은 넙치, *Paralichtys olivaceus*에서 비슷한 현상이 나타났으며(Hur *et al*., 2007), 어류가 스트레스를 받았을 때 나타나는 1차적인 경고 반응 현상으로 볼 수 있다(Schreck and Moyle, 1990).

일반적으로 어류는 급격한 환경변환에 적응하기 위해 혈중 카테콜아민과 코르티코스테로이드의 빠른 교환이 발생하여 혈중으로 빠르게 방출되면 코티졸 농도가 상승하므로, 코티졸은 주로 스트레스 지표로 이용된다(Mazeaud *et al*., 1977; Mommsen *et al*., 1999). 일반적인 수온 스트레스 조건에서는 수온과 함께 비례적으로 코티졸이 상승한다고 알려져 있고 어류가 저수온기로 가는 가을과 초겨울에 혈중 함량이 급격하게 증가하는 것으로 보고된 바 있다(Davis *et al*., 1990; Parihar *et al*., 1996; Parihar *et al*., 1997). 가숭어, *Chelon haematocheilus*는 수온하강 시 대조구인 10°C의 코티졸 농도가 48.5±4.8 ng/mL이었다가 0.5°C에 218.0±40.6 ng/mL으로 상승하는 것으로 나타났다(Kang *et al*., 2007). 본 연구에서는 코티졸 농도가 수온 하강 전 78.64±1.05 ng/mL였으나 5°C로 수온을 하강시킨 Exp. I에서는 103.88±5.79 ng/mL, Exp. II에서는 133.27±6.55 ng/mL로 높게 나타났다. 이러한 결과는 5°C 저수온에서 스트레스 노출 직후 급격한 생리적 순응력을 상실한 것으로 추정되며, 수온 내성의 한계를 넘었기 때문에 전량 폐사가 나타난 것이라 추정된다. 또한 5°C로 수온 하강 시간 후 코티졸의 농도는 Exp. II 실험구가 Exp. I보다 1.3배 정도 높았다. Pickering and Pottinger (1989)의 연구에서 코티졸 농도는 회복시간은 6시간 이내이며, 어종에 따라 증가속도와 시간이 다르다고 보고하였다. 본 연구에서도 능성어의 수온 스트레스에 따른 코티졸 농도는 수온 하강 간격에 따라 회복시간과 환경에 적응하는 시간의 차이가 나는 것으로 추정된다. Wedemeyer *et al*. (1990)에 따르면 일반적으로 안정 시 또는 스트레스를 받지 않는 어류의 코티졸 농도는 30~40 ng/mL로 알려져 있지만, 본 연구에서 대조구 코티졸 농도는 78.64±1.05 ng/mL로 높게 나타났다. 이러한 안정 시 코티졸의 농도는 어종, 크기, 수온, 영양상태, 시간 등 많은 환경적 요인과 발달 단계에 따라 달라진다고 알려져 있다(Barton and Iwama, 1991). 또한 스트레스 반응은 유발요인의 종류 및 강도에 따라 다른데, 감성돔, *Acanthopagrus schlegelii*의 경우 담수로 이동하였을 때 코티졸 농도가 약 30 ng/mL (Chang *et al*., 2007)였던 반면 수온을 상승시켰을 때 약 106 ng/mL (Choi *et al*., 2006)로 나타났다고 보고하였다.

어류는 신경내분비계의 당신생합성을 촉진시키고, 불안정한 생리 상태를 극복하기 위해 항상성 유지에 필요한 에너지원인 글루코스(GLU)를 필요로 한다. 일반적으로 안정적인 글루코

스의 농도는 어종마다 차이가 있는데, 활동성이 강한 감성돔, 잉어, 대구 및 연어과 어류와 같은 어종은 54~180 mg/100 mL (West *et al*., 1994; Blasco *et al*., 2001; Min *et al*., 2006)로 알려져 있고, 활동성이 거의 없는 rock perch (*Scorpaena porcus* L.) (Silkin and Silkina, 2005) 및 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) (Hur *et al*., 2007)의 경우 20 mg/100 mL 이하로 보고되어 글루코스 농도는 어종의 행동습성에 따라 구분되는 것으로 여겨진다. 본 연구의 글루코스 농도는 63.97±9.97 mg/100 mL로 나타나 유영능력과 행동 관점으로 볼 때 활동성이 있는 어종으로 보여지며, 이들 뇌의 대사 요구량 충족에 필요하기 때문이다 (Silkin and Silkina, 2005). 일반적으로 혈장 글루코스와 코티졸의 농도는 혈중에서 동반상승한다고 알려져 있으며 (Barton and Iwama, 1991; Nolan *et al*., 1999), 이러한 연구는 숭어, *Mugil cephalus* (Chang and Hur, 1999), pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Tsuzuki *et al*., 2001) 등의 경골어류에서 보고되었다. 저수온 스트레스에 의한 글루코스 증가는 감성돔 (Min *et al*., 2013), 틸라피아 *Oreochromis niloticus* (Hassan *et al*., 2013) 등 여러 어종에서 나타나고 있으며, 본 연구도 이러한 경향으로 저수온 스트레스는 Exp. I은 117.57±20.75 mg/dL, Exp. II은 122.83±9.48 mg/dL로 글루코스 상승을 유도하였다. 본 연구에서는 Exp. II이 Exp. I보다 수온 하강 간격이 짧았고 이로 인해 코티졸 농도는 Exp. II가 약 1.3배 높았으며, 글루코스 농도도 Exp. II가 약 0.7배 높게 나타났다. 글루코스의 증가율이 코티졸 농도보다 낮은 원인은 스트레스 유발요인 노출에 대하여 글루코스는 상승이 경미하다고 보고되고 있고 (Davis and McEntire, 2009), 코티졸에 의해 글루코스 신생합성이 일어나기 전에 글루코스가 항상성 유지를 위한 에너지원을 급격히 사용하였거나 빠른 시간 이내에 회복되었기 때문이다.

총단백질은 어류의 건강 진단이나 영양 상태, 질병 진단에 이용되고 있으며 정상적인 경골어류의 경우 약 4~7 g/dL 농도 범위로 알려져 있다 (Turner, 1937; Ozaki, 1978; Yanagisawa and Hashimoto, 1984). 본 연구에서도 대조구 12°C의 농도는 5.25±0.36 g/dL로 비슷한 결과가 나타났지만, 5°C로 수온을 하강시킨 Exp. I은 3.07±1.76 g/dL, Exp. II는 3.90±1.95 g/dL로 감소하는 경향을 보였다. TP 농도는 계절 (Nakagawa *et al*., 1977; Siddiqui, 1977a, b), 수질환경 (Byrne *et al*., 1989), 스트레스 (McLeay and Brown, 1979) 등에 따라서 차이가 나며, Ishioka (1980)의 연구에서도 감소하는 경향이 보여 본 연구와 비슷한 결과가 나타났다.

어체 혈액의 AST와 ALT는 아미노전이효소로 간, 비장 등의 세포에 분포하고, 어체에 수온변화, 저산소, 중금속에 의한 스트레스를 받으면 혈중의 활성이 높아지게 된다 (Pan *et al*., 2003). 본 연구의 Exp. I과 Exp. II에서는 대조구와 비교해 통계적 차이가 나타나지 않았다. 이는 수온 하강이 간세포 손상을 미치지 않았거나, 저수온에 의한 어체의 유영능력 감소 및 수온 충격에 의한 마취효과로 추정된다. 전해질은 어류가 스트레스를 받으면 삼투압 조절의 혼란에 의해 어체로부터 배출되어 농도 변화를 초래한다 (Nolan *et al*., 1999; Choi *et al*., 2007). 본 연구에서 Exp. I은 K^+ 및 Cl^-에는 영향을 미치지 않았으나 Na^+의 농도를 상승시켰고, Exp. II는 Na^+ 및 K^+의 농도를 상승시켜 저수온 스트레스는 수온 하강 간격이 짧은 Exp. II 구간이 Exp. I보다 큰 것으로 나타났다.

따라서 능성어 저수온 스트레스에서는 시간 간격별로 수온 하강시킨 Exp. I과 Exp. II는 미미한 차이는 있으나 비슷한 경향이 나타났으며, 7°C에 혈장 코티졸과 글루코스가 급격하고 상승하고, 유영능력과 아가미 개폐운동이 빨라지는 것으로 보아 어류의 저수온 내성의 한계수온으로 추정된다. 따라서 본 연구결과는 능성어의 대사생리에 안정적이면서 겨울철 사육이 가능한 최적 사육수온은 7°C로 판단되며, 그 이하의 수온이되면 폐사의 우려가 큰 것으로 나타났다.

요 약

본 연구는 능성어 (*Epinephelus septemfasciatus*)의 겨울철 저수온으로 발생하는 폐사원인 규명을 위한 생리생화학적인 반응을 조사하기 위하여 수온 12°C를 대조구로 Exp. I (−1°C/24 h), Exp. II (−1°C/8 h)의 실험구를 정하여 9일간에 걸쳐 생존율, 코티졸, 글루코스, 총단백질 및 전해질 농도를 측정하였다. 생존율은 Exp. I 실험구의 경우 사육수온 5°C로 하강한 후 170시간째 12마리의 폐사를 시작으로 174시간째에 전 개체 폐사하였다. 반면 Exp. II 실험구의 경우 5°C로 하강한 후 72시간째 9 마리의 폐사를 시작으로 76시간째 전 개체가 폐사하였다. 생리적 반응은 Exp. I과 Exp. II의 미비한 차이는 있으나 비슷한 경향이 나타났으며, 혈장 코티졸과 글루코스의 대사생리가 7°C에 급격하고 상승하고, 유영능력과 아가미 개폐운동이 빨라졌다. 이상의 결과로 능성어의 저수온 내성의 임계수온은 7°C로 추정된다.

사 사

본 연구는 국립수산과학원 “해수 순환여과양식 시스템 기술개발” 과제 (R2016021)의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

REFERENCES

Adam, S.M. 1990. Biological indicators of stress in fish. American

Fish. Soc. Bethesda MD., pp. 1-8.

Barton, B.A. and G.K. Iwama. 1991. Physiological change in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annu, Rev. Fish. Dis., 1: 3-26.

Blasco, J., I. Marimon, I. Viaplana and J. Fernandez-Borras. 2001. Fate of plasma glucose in tissues of brown trout in vivo: effects of fasting and glucose loading. Fish. Physiol. Biochem., 24: 247-258.

Byrne, P., D. Speare and H.W. Ferguson. 1989. Effects of a cationic detergent on the gills and blood chemisty of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Dis. Aquat. Org., 6: 195-196.

Cataldi, E., P. Di Marco, A. Mandich and S. Cataudella. 1998. Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress. Comparative Biochemistry and Physiology, 121: 351-354.

Chang, Y.J. and J.W. Hur. 1999. Physiological responses of greymullet (*Mugil cephalus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by rapid changes in salinity of rearing water. J. Korean Fish. Soc., 32: 310-316. (in Korean)

Chang, Y.J., B.H. Min and C.Y. Choi. 2007. Black porgy (*Acanthopagrus schlegeli*) prolactin cDNA sequence: mRNA expression and blood physiological responses during freshwater acclimation. Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol., 147: 122-128.

Choi, C.Y., B.H. Min, N.N. Kim, S.H. Cho and Y.J. Chang. 2006. Expression of HSP90, HSP70 mRNA and change of plasma cortisol and glucose during water temperature rising in freshwater adapted black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*. J. Aquac., 19: 315-322. (in Korean)

Choi, C.Y., B.H. Min, P.G. Jo and Y.J. Chang. 2007. Molecular cloning of PEPCK and stress response of black porgy (*Acanthopagrus schlegeli*) to increased temperature in freshwater and seawater. Gen. Comp. Endocrinol., 152: 47-53.

Cho, J.K., C.G. Hong, J.Y. Park, M.H. Son, C.G. Park and J.M. Park. 2015. Effect of water temperature salinity on the egg development and larveae of sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. Korean J. Ichthyol., 27: 21-25. (in Korean)

Davis, K.B. and N.C. Parker. 1990. Physiological stress in striped bass: effect of acclimation temperature. Aquaculture, 91: 349-358.

Davis, K.B. and M. McEntire. 2009. Comparison of the cortisol and glucose stress response to acute confinement among white bass, *Morone chrysops*, striped bass, *Morone saxatilis*, and sunshin bass, *Morone chrysops* × *Morone saxatilis*. J. The World Aquacult. Soc., 40: 567-572.

Fry, F.E.J. 1997. The effect of environmental factors on the physiology of fish. In: Hoar, W.S. and D.J. Randall (eds.), Fish Physiology, VOL.9, Academic Press, New York, pp. 1-198.

Hassan, B., M. El-Salhia, A. Khalifa, H. Assem, H. Assem, A. Al-Basomy and M. El-Sayed. 2013. Environmental isotonicity improves cold tolerance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in Egypt. Egyptian J. Aquatic., 39: 59-65.

Hong, C.C., J.K. Cho, J.Y. Park, M.H. Son, J.M. Park, K.H. Han and H.W. Kang. 2015. Ovulation induction effect of sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* by treating hormones. JFMSE J., 27: 981-989.

Hur, J.W., I.S. Park and Y.J. Chang. 2007. Physiological response of the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, to a series stress during the transportation process. Ichtyol. Res., 54: 32-37.

Hur, J.W. and H.R. Habibi. 2007. Physiological response and hematological characteristics of goldfish (*Carassius auratus*) to water termperature shock. Korean J. Ichthyol., 19: 93-100. (in Korean)

Ishioka, H. 1980. Stress reactions in the marine fish. I. Stress reactions induced by temperature change. Bull. Jap. Sci. Fish., 46: 523-532.

Jeon, J.K., P.K. Kim, Y.J. Park and H.T. Huh. 1995. Study of serum constituents in several species of cultured fish. J. Kor. Fish. Soc., 28: 123-130. (in Korean)

Kang, D.Y., H.W. Kang, G.H. Kim, K.C. Jo and H.C. Kim. 2007. Effect of cold shock on the physiological responses of the cultured mullet, *Mugil haematocheilus* in winter. J. Kor. Fish. Soc., 40: 226-233. (in Korean)

Kim, B.H., K.M. Kim, Y.D. Lee, C.B. Song and S. Rho. 1997. Reproductive biology of the sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* I. The effect of HCG on ovulation induction. J. Aquacult., 10: 55-61. (in Korean)

Kim, S.H., C.H. Lee, Y.B. Song, H.S. Ju, H.B. Kim and Y.D. Lee. 2012. Ultrastructure of blacktip grouper, *Epinephelus fasciatus* spermatozoa. Korean J. Microscopy., 42: 61-66. (in Korean)

Lee, C.K., S.B. Hur, T.S. Ko and S. Park. 1998. Maturation, sex ratio and sex-reversal of red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. J. Aquaculture, 11: 573-580. (in Korean)

Mazeaud, M., F. Mazeaud and E.M. Dinaldson. 1977. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. Trans. Ame. Fish. Soc., 106: 201-212.

McLeay, D.J. and D.A. Brown. 1979. Stress and chronic effects of untreated and treated bleached keaft pulpmill effuent on the biochemistry and stamina of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J. Fish. Res board Can., 36: 1049-1059.

Min, B.H., G.A. Noh, M.H. Jeong, D.Y. Kang, C.Y. Choi, I.C. Bang and Y.J. Chang. 2006. Effects of oral administration of thyroid hormone on physiological activity and growth of black porgy reared in freshwater or seawater. J. Aquaculture, 19: 149-156. (in Korean)

Min, B.H., M.S. Park, J.I. Myeong and H.K. Hwang. 2013. Physiological stress responses in black seabream *Acanthopagrus schlegelii* subjected to acute hypoxia. Kor. J. Fish. Aquat. Sci., 46: 819-826. (in Korean)

Mommsen, T.P., M.M. Vijayan and T.W. Moon. 1999. Cortisol in teleosts: dynamic, mechanisms of action, and metabolic regulation. Rev. Fish. Biol. Fish, 9: 211-268.

Nakagawa, H., M. Kayama and K. Ikuta. 1977. Electrophoretic evidence of seasonal variation of carp plasma albumin. J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., 16: 99-106.

Nolan, D.T., R.L.J.M. Op't Veld, P.H.M. Balm and S.E. Wendelaar Bonga. 1999. Ambient salinity modulates the response of the tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters) to net confinement. Aquaculture, 177: 297-309.

Ozaki, H. 1978. Physiology of fish, Vol. 1, Blood. Circulation. Midori-shobo. Tokyo, 326 p.

Parihar, M.S., A.K. Dubey, T. Javeri and P. Prakash. 1996. Changs 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.

Parihar, M.S., T. Javeri, T. Hemnani, A.K. Dubey and P. Prakash. 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.

Pan, C.H., Y.H. Chien and B. Hunter. 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, C.J., B.H. Min, K.S. Kim, J.W. Lee, J.H. Lee, J.K. Noh, H.C. Kim, J.W. Park and J.I. Myeong. 2011. Physiological responses on low water-temperature stress of pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. Korea J. Malacol., 27: 317-322. (in Korean)

Park, J.M., J.K. Cho, K.H. Han, N.R. Kim, H.K. Hwang, K.M. Kim, J.I. Myeong and M.H. Son. 2014. Early life history of the sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* from Korea. Dev. Reprod., 18: 13-23. (in Korean)

Park, J.Y., C.G. Hong, J.K. Cho, M.H. Son, K.H. Han and J.M. Park. 2015. Early osteological development of the larvae and juveniles in sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* (Pisces: Serranidae). Korean J. Ichthyol., 27: 189-198. (in Korean)

Perry, S.F. and S.D. Reid. 1993. β-adrenergic signal transduction in fish; interactive effects of catecholamines and cortisol. Fish. Physiol. Biochem., 11: 195-203.

Pickering, A.D. and T.G. Pottinger. 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. Fish Physiol Biochem., 7: 253-258.

Santos, M.A. and M. Pacheco. 1996. *Anguilla anguilla* L. Stress biomarkers recovery in clean water and secondarytreated pulp mill effluent. Ecotoxicology and Environmental Safety, 35: 96-100.

Schreck, C.B. and P.B. Moyle. 1990. Methods for fish biology. American. Fish. Society. Bethesda. Maryland. pp. 1-684.

Siddiqui, N. 1977a. Seasonal, size and comparative study of plasma proteins of four airbreathing freshwater fishes. Proc. Indian Acad. Sci. Sect. B., 85: 384-390.

Siddiqui, N. 1977b. Changes in blood plasma mineral concentration with feeding spawning and size of air-breathing catfish (*Claria batrachus*). Zool. Jahrb., 81: 81-89.

Silkin, Y.A. and E.N. Silkina. 2005. Effect of hypoxia on physiological-biochemical blood parameters in some marine fish. J. Evolut. Biochem. Physiol., 41: 527-532.

So, S.Y., J.W. Her and J.Y. Lee. 2008. Variation of oxygen consumption, operculum movement number and hemoglobin by water temperature change in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Korean J. Ichthyol., 20: 239-247. (in Korean)

Song, Y.B., H.J. Baek, H.B. Kim, S. Kiyoshi, S.J. Kim and Y.D. Lee. 2008. Induction of maturation and ovulation with HCG treatment in the sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*. J. Aquaculture, 21: 96-101. (in Korean)

Specker, C.B., C.S. Bradford, M.S. Fitzpatrick and R. Patino. 1989. Regulation of the interrenal of fishes: Non-classical control mechanism. Fish Physiol. Biochem., 7: 259-265.

Tsuzuki, M.Y., K. Ogawa, C.A. Strussmann, M. Maita and F. Takashima. 2001. Physiological responses during stress and subsequent recovery at different salinities in adult pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Aquaculture, 200: 349-362.

Turner, A.H. 1937. Serum protein measurements in the lower vertebrates. II. In marine teleosts and elasmobranchs. Biol. Bull., 73: 511-626.

Wedemeyer, G.A., B.A. Barton and D.J. McLeay. 1990. Stress and acclimation. In: Schreck, C.B. and P.B. Moyle (eds.), Methods for fish biology. American. Fish. Society. Bethesda. MD., 451-489.

West, T.G., C.J. Brauner and P.W. Hochachka. 1994. Muscle glucose utilization during sustained swimming in the carp (*Cyprinus carpio*). Am. J. Physiol., 267: 1226-1234.

Yanagisawa, T. and K. Hashimoto, 1984. Plasma albumins in elasmobranchs. Nissuishi., 50: 1083.

Yang, M.H., Y.U. Choi, M.M. Jung, H.D. Ku, B.S. Oh, T.S. Moon, C.H. Lee, K.M. Kim and S.J. Han. 2007. Temperature effect in egg development and hatching of longtooth grouper, *Epinephelus bruneus*. Dev. Reprod., 11: 105-109. (in Korean)