



# 사육수의 수온과 염분 및 부유물질 농도 변화에 의한 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에 관한 생리활성 변화 연구

진 병 선<sup>†</sup>  
(안양대학교)

## Stress Response of Flounder, *Paralichthys olivaceus* to Changes in Salinity, Temperature and Suspended Solid

Byung-Sun CHIN<sup>†</sup>  
(Anyang University)

### Abstract

One year old flounder were exposed to different conditions in temperature, salinity and suspended solid (SS). Three experiments were conducted separately on each condition and concentration (level) was continuously changed. In temperature experiment (Exp1), temperature was set to 15°C and decreased 2°C in every two days to 13°C, 11°C and 9°C. In salinity experiment (Exp2), salinity was set to 30 psu and decreased to 15 psu, 7.5 psu, and 3.75 psu in every two days. In SS experiment (Exp3), SS concentrations was set to 30 mg/l, and increased to 60 mg/l, 120 mg/l, and 240 mg/l in every two days. Blood was extracted to measure hematocrit (Ht) and cortisol level in every 2 days. In all three experiments, Ht concentrations tend to increase when the condition gradient changed. In Exp1, cortisol concentration of plasma was decreased when water temperature decreased. In Exp2, cortisol concentration was increased as salinity decreased. In Exp3, cortisol concentrations tend to increase as the SS concentration increased. Among concentration of Ht and cortisol there were positive correlation. Results indicate that SS is the most stressful condition to flounder among levels set in these experiment.

**Key words :** Physiological response, Cortisol, Salinity, Cooling water, Suspended solid

### I. 서론

일반적으로 생물은 스트레스 강도에 비례하여 혈액 내의 생리대사 활성이 변화한다(Davis et al., 1990; Parihar et al., 1996). 어류는 스트레스에 의해서 혈액 중 코티졸 농도가 증가하기에 코티졸은 스트레스에 의한 결과를 알아보는데 좋은 지표가 된다(Kang et al., 2007). 코티졸 농도의 상승

이후에 발생하는 혈당치의 상승은 스트레스에 대항하기 위하여 어체에서 에너지 이용하는 현상으로 알려져 있고, 어류의 전해질, 삼투압 조절에서도 중요한 역할을 하며, 어류의 해수적응에 관여하고 아가미에 작용하여 해수형 염류세포의 분화를 촉진함과 동시에 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 이온배출을 촉진하고 장에서 이온 및 물의 흡수를 증가시킨다(Kang et al., 2007). 어류의 혈액 내 적혈구는

<sup>†</sup> Corresponding author : 032-930-6029, hkhachin@anyang.ac.kr

\* 본 연구에 도움을 주신 안양대학의 박경수 교수님께 감사드립니다.

몸 전체로 산소운반 능력을 평가하는 척도로 사용되며, 스트레스로 인하여 혈액 산성화 현상에 의한 적혈구의 산소운반 능력이 저하된다고 보고되었다(Perry and Reid, 1993).

어류에게 스트레스로 작용하는 환경변화 요인으로는 수온, 염분, 용존산소, 부유 물질, 양식밀도, 먹이제한 등이 있다(Bolasina et al., 2006; Chang et al., 2001; Hur et al., 2002; Min et al., 2013; Myeong et al., 2011; Yoon & Park, 2011). 수온변화는 어류의 성비, 번식, 영양대사, 성장 등과 같은 생리적인 요인에 영향을 주며, 급격한 수온 변화는 어류의 생리조건을 변화시키거나 체내 항상성을 붕괴할 수 있다(Barton & Iwama, 1991; Pickering, 1992). 부유물질은 어류의 아가미 조직을 변형시키고 산소공급을 방해하여 사망하게 하거나 먹이에 대한 섭식행동이나 무리를 짓는 행동, 회유 및 이동패턴 등에 영향을 준다(Baba et al., 2006; Berry et al., 2003; Kjelland et al., 2015; Ohata et al., 2011; 2013; Shin et al., 2006; 2008). 해양생물의 경우, 이동범위가 넓은 종은 외부로부터의 급작스런 외부의 스트레스에 의한 반응으로 서식처를 회피하는 행동을 보이지만 이동범위가 좁은 저서생물이나 양식생물의 경우 회피반응보다는 일정시간 서식처에 머물거나 갇힌 환경에서 직접적인 스트레스를 받게 되어 생태-생리적으로 영향을 받을 수 있다고 판단된다.

넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 한국, 일본, 중국에 분포하고 우리나라 전 연안역에 서식하는 정착성 어종으로 스트레스에 대한 내성이 강한 종으로 알려져 있는 유용 수산종이다. 또한 광염성 어류이고 양식 대상종으로 어병치료, 양식기술, 이화학적 체성분, 배합사료관련 성장 등의 연구가 활발하고 광범위하게 연구되고 있다(Hur et al., 2006; Jung & Seo, 2016; Kim et al., 2010; Kim et al., 2014; Kim et al., 2016; Yoon et al., 2016a).

연안해역의 대규모 산업시설인 조력발전소, 제

철공장, LNG 저장기로부터 냉-온배수의 연안해역 방류, 저수온 배출수 방출, 주기적인 갑문 개폐에 의해서 방류 또는 홍수시 방류를 위한 조력발전소 가동 정지 등으로 해양환경 변동 주기의 급격한 변화에 의한 스트레스가 해양생물에 미치는 영향을 검토할 필요가 있다(Chang et al., 1999; Yoon et al., 2016b). 또한 여름철의 냉수대 출현, 저염분 지하수의 이용 등에 의한 스트레스가 해양생물에 미치는 영향도 고려할 필요가 있다(Hur et al., 2002). 본 연구에서는 넙치를 이용하여 수온과 염분 및 부유물질의 농도(정도)를 단기간에 급격하게 변화하는 실험을 수행하여 생리적 반응에 관한 기초적 자료를 확보하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험생물

본 연구에서는 태안지역의 육상수조에서 양식하는 넙치를 구입하여 실험실로 운반한 후 14일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험을 수행하였다. 실험에 사용한 넙치는 체장이  $29.6 \pm 1.1$  cm(체중  $250.1 \pm 40.2$  g)으로 미성숙된 한살 개체들이었다. 넙치는 500 L 원형수조에서  $15.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$  수온,  $30.0 \pm 1.0$  psu 염분, pH  $8.0 \pm 0.5$ , 용존산소는 포화율(%) 기준으로 90% 이상을 유지하였고, 실험실 내 조도는 실험실 환경에 따라 12시간 Light : 12시간 Darkness 조건을 유지하였으며, 넙치 상업용 먹이를 1일 2회 공급하였다. 먹이 잔여물은 순환여과 방식에 의하여 제거하였고 유지에 필요한 사육용수의 회수 및 교환은 1~2주 간격으로 실시하였으며, Ammonia Alert(Seachem)를 이용하여 암모니아 농도를 측정 한 후 고농도일 경우 ( $>0.2$ ppm) 수시로 교환하였다. 수온, 염분, 부유물질의 농도에 관련된 실험을 수행하였고 실험기간 중 먹이 급이에 따른 생물의 대사활동 변화를 최소화시키기 위해 실험 48시간 전부터 절식시켰으

며, 실험 중에는 먹이를 공급하지 않았다. 모든 실험에서 수온, 염분, 수소이온농도(pH), 용존산소는 매일 측정하였다.

## 2. 수온 하강 실험(Exp.1)

수온변화에 따른 넙치의 대사활동 변화실험은 400 L 원형수조에서 9~15°C 수온범위로 실시하였다. 수온변화 실험은 15°C에서 시작하여 2일째에 2°C씩 단계적(15°C, 13°C, 11°C, 9°C)으로 수온을 하강시키면서 넙치의 대사활동을 관찰하였다. 실험생물은 400 L 수조에서 29.6~30.6 psu 염분범위, pH 7.1~7.6, 용존산소 8.5~10.3 mg/L 범위에서 실시하였으며, 실험실 내 조도는 실험실 환경에 따라 12시간 Light : 12시간 Darkness 조건을 유지하였다.

## 3. 염분 하강 실험(Exp.2)

염분변화에 따른 넙치의 대사활동 변화실험은 400 L 원형수조에서 3.8~30.0 psu 염분범위로 실시하였다. 염분실험은 넙치를 염분 30.0 psu(15°C)를 대조구로 설정하여 시작하여 2일째에 기존 염분농도의 절반으로 희석하여 염분농도(30.00, 15.00, 7.50, 3.75 psu)를 단계적으로 하강시키면서 실험생물의 대사활동을 관찰하였다. 염분은 천일염을 구입하여 염분을 조절하였고 넙치는 500 L 원형수조에서 pH 7.5~8.0, 용존산소 8.03~9.57 mg/L 범위에서 실시하였다.

## 4. 부유물질 농도증강 실험(Exp.3)

부유물질은 강화 갯벌의 퇴적물을 이용하여 부유물질 농도변화에 따른 넙치 대사활동 변화실험은 30~240 mg/L 부유물질 농도범위에서 실시하였다. 부유물질 실험은 넙치를 여과해수(15°C)에서 2주 이상 적응시킨 후, 최초 농도 30 mg/L에 노출시키고 2일째에 2배의 부유물질농도를 단계적으로 증가시키면서 부유물질농도를 4구간(30,

60, 120, 240 mg/L)으로 대사활동을 관찰하였다. 실험에 설정된 부유물질농도는 인천 강화 갯벌에서 채취한 퇴적물을 60 µm의 체로 여과하고 건조량을 측정하여 실험수조에 투입하였다. 부유물질농도는 해수공정시험기준(Ministry of Oceans and Fisheries, 2013)에 의하여 부유물질농도를 측정하였다. 실험생물인 넙치는 2단 수조로 된 순환 수조에서 실험하였다. 상단 200 L 수조에는 부유물질을 혼합하였고 넙치는 하단 400 L 수조에는 수용하여 실험하였다. 부유물질 실험은 400 L 수조에서 수온 15.0~15.6°C, 염분 29.9~30.7 psu, 수소이온농도(pH) 7.6~8.9, 용존산소 7.4~8.4 mg/L 범위에서 실시하였다.

## 5. 시료 채취

모든 실험을 위한 모든 생물은 실험 전 최소 14일 동안 최초 환경조건에 적응시켰으며, 이후 실험체계에 맞추어 농도변화 직전에 각각의 농도에서 넙치의 생리활성 분석을 위한 시료를 채취하였다. 시료 채취 및 분석은 모든 실험에서 동일한 항목으로 수행하였고 실험에 사용된 모든 넙치 개체는 어체의 크기(mm) 및 중량(WWt)을 측정하여 기록하였다. 시료 채취 시 분석에 사용한 넙치의 개체수는 각각의 실험에서 3~4개체를 취하여 분석 시료로 사용하였고 넙치의 혈액은 페녹시에탄올(phenoxo ethanol)을 해수와 1%(V/V) 이내로 혼합한 용액에 넙치를 마취시킨 후, 미부의 동맥에서 헤파린을 처리한 주사기를 사용하여 1분 이내에 개체별로 채취하였다. 채취한 혈액은 즉시 헤파린 처리가 된 튜브에 분주한 후, 적혈구 용적을 측정하기 위하여 4,000 rpm으로 30분간 원심분리한 후 적혈구와 혈장부분의 길이에 대한 적혈구 부분의 비율을 산출하였고 추출한 혈장은 -70°C에서 동결보관한 후 코티졸 농도분석에 사용하였다. 코티졸 농도분석은 cortisol EIA kit(ADI-901-071, Enzo Life Science, 미국)를 사용하여 항원-항체반응을 유도한 다음 405 nm 파장

에서 흡광도를 측정하였으며, 제조사에서 제공하는 매뉴얼에 따라 코티졸 농도로 환산하였다.

## 6. 자료분석

본 연구에서는 수행한 넙치의 수온별과 염분별 및 부유물질 농도별 생리 활성 물질 농도(코티졸)와 적혈구 용적률을 이용하여 일원분산분석(one factor ANOVA)을 실시하여, 각각의 실험 수온별 대상 생물의 생리 반응에 대한 유의성을  $\alpha = 0.05$  유의 수준에서 검증하였다. 분산분석은 자료의 정규분포(normal distribution)와 등분산성(equal variance)을 가정하므로 각각의 조건이 만족하는지 여부를 Shapiro-Wilk W test( $P > 0.05$ )로 검증하였고 코티졸은 대수변환을 하여 분석을 실시하였다. 코티졸의 농도와 적혈구 용적률은 상관관계 분석을 수행하였다. 전체 3개의 실험에서 분석된 코티졸의 농도와 적혈구 용적률을 이용하여 집괴분석을 수행하였다. Primer v.6를 이용하여 자료는 제곱근 변환(square-root transformation)을 실시하였고 이후 각 실험구에서 자료를 바탕으로 Bray-Curtis similarity를 계산하였으며, 이로부터 산출된 유사도 행렬로부터 각 실험구를 연결하는 방법으로는 group average method를 이용하였다.

## Ⅲ. 결과

실험 수행기간 중 사망한 개체는 없었고, 각 실험구당 실험 기간 중의 체중이나 체장에서의 변동은 없었다.

넙치 수온 실험(Exp.1)에서 48시간 간격으로 수온을 하강하여 실험한 결과 수온하강에 따른 적혈구 용적(%)은 15°C와 13°C 수온구간에서 각각  $32.5 \pm 3.4\%$ ,  $32.1 \pm 2.8\%$ 로 유사한 수준으로 나타났고, 수온 11, 9°C에서는  $43.9 \pm 2.0\%$ ,  $39.1 \pm 2.9\%$ 로 다소 증가하였다(<Table 1>).

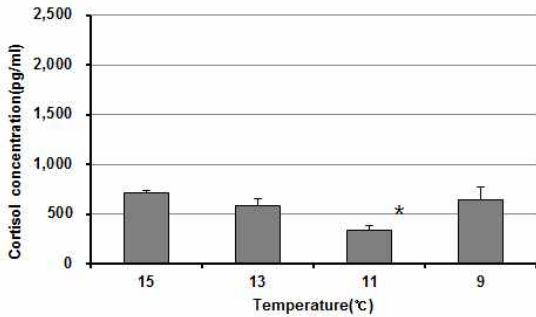
수온하강에 따른 넙치의 혈중 코티졸 농도 변화를 관찰한 결과, 11°C 수온에서 가장 낮은 농도 341.3 pg/ml를 나타냈고 통계적으로 유의하였다( $P < 0.01$ )([Fig. 1]). 다른 수온 구간(13°C, 9°C)에서는 15°C 실험구와 통계적으로 유의하지 않았다( $P > 0.05$ ).

염분농도를 48시간 간격마다 절반의 염분농도로 하강하는 실험(Exp.2)을 수행한 결과 넙치의 적혈구 용적(%)은 염분농도 30.00 psu에서  $28.2 \pm 5.3\%$ 이었고 염분농도 15.00 psu로 감소함에 따라서  $47.1 \pm 5.1\%$ 로 증가하는 경향을 보이다가 낮은 염분농도로 이동할수록 7.50 psu와 3.75 psu에서는 각각  $36.2 \pm 0.7\%$ 와  $34.5 \pm 5.8\%$ 로 감소하는 경향을 나타냈다(<Table 1>).

<Table 1> Hematocrit of flounder in three experiments

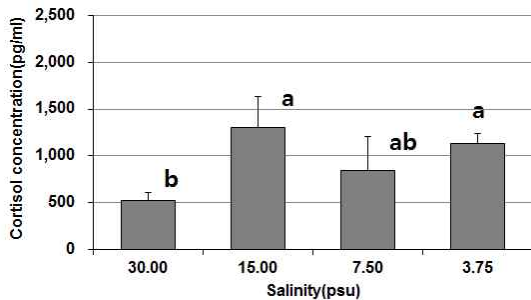
Elapsed time (hr)	Exp.1 Water temperature (°C)		Exp.2 Salinity (psu)		Exp.3 Suspend solid (mg/L)	
	Level	Hematocrit (%)	Level	Hematocrit (%)	Level	Hematocrit (%)
0	15°C	$32.5 \pm 3.4^a$	30.00 psu	$28.2 \pm 5.3$	30 mg/L	$41.3 \pm 4.1$
48	13°C	$32.1 \pm 2.8^a$	15.00 psu	$47.1 \pm 5.1^*$	60 mg/L	$40.2 \pm 2.9$
96	11°C	$43.9 \pm 2.0^b$	7.50 psu	$36.2 \pm 0.7$	120 mg/L	$52.9 \pm 1.0^*$
144	9°C	$39.1 \pm 2.8^b$	3.75 psu	$34.5 \pm 5.8$	240 mg/L	$39.8 \pm 5.1$

Mean within each column followed by same alphabetic letter are not significantly different( $P > 0.05$ )  
Asterisk is significantly different( $P < 0.05$ )



[Fig. 1] Variation of cortisol levels in flounder by different temperature(Exp.1). Asterisk is significantly different( $P>0.05$ )

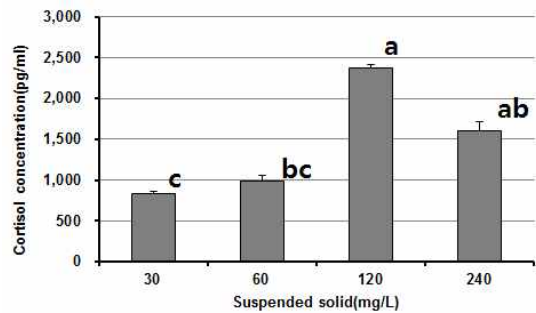
염분하강에 따른 넙치의 코티졸 농도는 30.00 psu에서 가장 낮았고 (520 pg/ml) 염분이 낮아짐에 따라서 30.00 psu보다는 증가하였고 15.00 psu ~3.75 psu는 통계적으로 유의 하지 않았다 ( $P>0.05$ )([Fig. 2]).



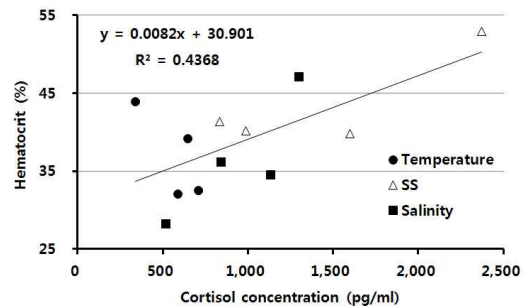
[Fig. 2] Variation of cortisol levels in flounder by different salinity(Exp.2). Same alphabetic letter are not significantly different( $P>0.05$ )

투명한 해수(0 mg/L)에서 48시간 간격으로 농도를 증가하면서 수행한 부유물질 농도변화 실험(Exp.3)에서 넙치의 적혈구 용적(%)은 부유물질 농도 30 mg/L과 60 mg/L 및 240 mg/L에서 각각  $41.3\pm 4.1\%$ ,  $40.2\pm 2.9\%$ ,  $39.8\pm 5.1\%$ 로 상대적으로 낮게 나타났고 120 mg/L에서는  $52.9\pm 1.0\%$ 로 높게 나타났다(<Table 1>). 부유물질 농도 120 mg/L에서만 통계적으로 유의하게 높았다( $P<0.05$ ). 부유물질 농도 변화에 따른 코티졸 농도는 30 mg/L

와 60 mg/L에서는 낮은 값( $833.4\sim 988.0$  pg/ml)을 나타냈고 120 mg/L에서는 농도( $2,307.3\pm 639.0$  pg/ml)가 가장 높게 증가하였고 240 mg/L에서는 낮은 농도와 높은 농도의 중간농도( $1,597.9\pm 478.0$  pg/ml)를 나타냈다( $P<0.05$ )([Fig. 3]). 모든 실험에서 측정된 코티졸 농도와 적혈구 용적률과의 상관관계를 분석한 결과 양의 상관관계를 나타냈다([Fig.4]).



[Fig. 3] Variation of cortisol levels in flounder by different suspended solid concentration (Exp.3). Same alphabetic letter are not significantly different( $P>0.05$ )



[Fig. 4] Corelation between cortisol concentration and hematocrit of flounder in all the experiment.

#### IV. 고 찰

어류는 주변 환경변화에 내성한계 이하의 환경에서는 체내 적응과정을 거쳐 변화된 환경에 순치되기 때문에 생리 생태적 영향이 없다는 보고

가 있다(Kim et al., 2002; Kim et al., 2006; Yoon et al., 2003). 그러나 급작스런 수질악화로 인한 임계수준을 넘는 자극에는 생물들이 심한 스트레스를 받게 되고 일시적으로 본래의 서식처를 떠나 회피하는 행동을 보이지만, 일부 종들은 생리활성도가 떨어져 건강도를 악화시키고 사망에 이르기도 한다(Batton & Iwama, 1991; Popper et al., 2004).

개체의 크기가 280 mm이상의 양식넙치를 대상으로 수온 급하강(20℃에서 10℃로 하강)의 생리적 영향을 분석한 연구 결과에 의하면 혈액 내 적혈구 용적은 수온이 하강시 변화가 없고 수온이 상승시 증가하였다가 26시간 이후에는 감소하여 원래대로 회복되었다(Chang et al., 2001). 또한 연속적인 수온 급하강 실험에서는 수온이 하강함에 따라서 적혈구 용적량과 총단백질량이 감소하는 현상을 보였다(Chang et al., 1999; Park et al., 1999). 스트레스에 대하여 어류는 생리적으로 1차, 2차 반응을 보인다. 1차 반응에서 코티졸의 농도가 증가하고 스트레스가 지속되면 2차 반응에서는 글루코스, 총단백질량, 젖산 등이 증가하여 이들을 스트레스에 관련된 지표로 사용된다(Chang et al., 2001; Hur et al., 2006). 일반적으로 스트레스에 의하여 코티졸의 농도와 글루코스의 농도는 동시에 증가한다. 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*)의 경우에는 15~9℃ 수온구간에서 수온이 하강함에 따라 코티졸의 농도가 증가하고 저수온에서 생리적인 영향을 받는다고 보고되었다(Yoon et al., 2016b). 한편 감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*)은 수온 및 염분 변화에 따른 스트레스 반응을 관찰한 결과, 24시간 간격으로 수온을 20℃에서 30℃로 상승시킨 경우 코티졸 농도는 증가하여 수온상승에 따른 어류의 스트레스 반응을 보고하였다(An et al., 2010). 본 연구의 Exp.1에서는 수온을 하강하고 48시간이후에 혈액을 채취하여 코티졸 농도를 측정하였고 13℃ 이외에는 같은 농도를 유지하여 48시간 내에 원래의 상태로 회복이 된다고 판단되었다. 그러나 적혈구 용적

률은 11℃와 9℃에서 증가하였는데 이 결과는 15℃에서 순치한 넙치가 수온 하강에 의한 스트레스로부터 항상성 유지를 위하여 활성을 높였다고 판단되었다. 수온이 하강하는 시기에 넙치는 10℃이하에서는 매일 먹이를 급이하여도 체중이 감소하는 경향을 보이고 9℃이하에서는 먹이를 공급하여도 섭이하지 못한다는 보고가 있다(Chang, 2002).

넙치의 적정사육 염분은 27.7~35.7 psu로 알려져 있지만, 염분조절을 가능하게 하는 염류세포를 가지고 있고 유어기에 천해의 연안에서 서식하는 생태적 특성으로 일시적인 저염분 변화에 적응할 수 있다고 판단된다(Hiroi et al., 1997; Minami, 1982). 넙치 전장 176 mm의 경우, 염분 30 psu에서 0 psu와 15 psu으로 염분을 하강한 결과 적혈구 용적률은 24시간 후에도 증가한 상태를 유지하고 코티졸의 농도는 염분 15 psu에서는 한 시간 이내로 적응하여 염분 0 psu에서만 증가하였다고 보고되었다(Hur et al., 2002). 또한 염분 0 psu에서는 총단백질 농도 증가, 글루코스, Na<sup>+</sup> 및 Cl<sup>-</sup>농도 감소로 고삼투압조절 능력에 문제가 일어나고 48시간부터는 사망하는 개체가 있었고 144시간에는 전량 폐사하였다.

본 연구의 Exp.2에서 적혈구 용적률은 염분이 15.00 psu로 하강할 때, 증가하였고 이후에는 감소하는 경향을 나타냈다. 종묘로 육상수조에서 사육한 넙치는 자연에서와는 다르게 염분의 변화를 경험하지 못 한다. 본 실험에서 나타난 결과는 넙치가 경험해보지 못한 염분변화에 적응하는데 시간이 많이 소요되어서 15.00 psu에서는 적혈구 용적률이 높게 나타났고 이후에는 염분변화에 적응하는데 시간이 적게 소요되어서 적혈구 용적률이 낮게 나타났다고 판단된다. 코티졸의 농도도 염분 15.00 psu로 하강할 때 증가하고 이후에는 감소하는 경향을 나타내어 염분에 대하여 적응이 되었다고 판단된다. 넙치의 자치어는 염류세포가 생성된 이후에는 5 psu까지 염분조절이 가능하고 Exp.3의 염분 3.75 psu에서 코티졸의 증

가와 사망이 없는 결과로 염분 3.75~5.00 psu가 넙치에게는 임계수준의 경계로 판단된다(Daniels & Watanabe, 2010; Kim et al., 2004). Hur et al.(2003)은 넙치 전장 176 mm의 경우, 염분 15 psu의 저염분에 30일 동안 사육한 결과 염분 35 psu 보다 생존율이나 성장률이 다소 낮았으나 코티졸, 글루코오즈,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  및 삼투질 농도 등은 대조구와 실험구 사이에 차이가 없었다고 보고하였다. 넙치 전장 208 mm를 이용하여 15 psu에서 0 psu로 염분을 변화한 후 120시간동안 관찰한 결과 글루코오스와 코티졸의 농도가 높은 값을 유지하였고 높은 농도를 계속 유지하면 생체에 악영향을 미친다고 하였다(Hur et al., 2006). 감성돔의 경우, 염분 35 psu, 10 psu 및 0 psu에서의 코티졸 농도는 염분농도가 감소함에 따라 감성돔의 스트레스가 증가함을 보고하였다(An et al., 2010). 농어(*Lateolabrax japonicus*) 유어의 염분변화에 따른 생리 반응을 관찰한 결과 30 psu에서 2 psu로 하강하여 1시간 동안 노출된 농어의 코티졸 농도는 증가하였으며, 24시간 후에는 더욱 증가하여 저염분 노출에 따라 코티졸 농도가 증가하는 것으로 보고하였다(Han et al., 2003). 이와 같이 염분변화에 의한 스트레스는 해양생물의 혈액성상 내의 코티졸 분비를 증가시키고 코티졸 농도의 회복시간은 어종, 스트레스 요인 및 강도에 따라 다르게 나타난다(Braton & Iwama, 1991).

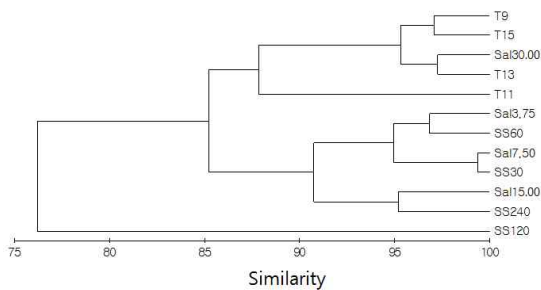
연안역의 어류들에서 부유물질에 노출이 되면 적혈구 용적률, 헤모글로빈 농도, 삼투조절액 등이 증가한다(Sherk et al., 1975). 넙치 치어(체장 32 mm)에 대한 부유물질의 7일 반치사 농도(7d-LC50)는 156.9 mg/L이고 넙치치어(전장 81.7 mm)에 대한 연안역에 많은 부유물질인 점토광물질 스멕타이트(smectite)의 96시간 반치사 농도(96h-LC50)는 37,000 mg/L이었다(Baba et al., 2006; Yoon & Park 2011). 여러 종류의 점토광물질(중간입자크기 16.1  $\mu\text{m}$ )을 담수에 부유시켜 이용한 부유물질 실험에서 넙치치어(전장 81.7 mm)에 대한 파이로필라이트(pyrophyllite)의 96h-LC50

은 78,000 mg/L이었고 세리사이트(sericite)는 79,000 mg/L이었으며, 스멕타이트(smectite) 4,000 mg/L이었다(Iwata et al., 2011). 스멕타이트(smectite)는 서로 상이한 결과를 나타냈는데 부유물질을 실험에 첨가하는 방법이나 점토광물질의 종류에 따라서 영향농도가 달라진다고 보고하였고, 아가미 손상에 의한 산소여과의 실패가 원인으로 개체들이 사망하였다(Baba et al., 2006; Iwata et al., 2011). 감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*)을 10일 동안 부유물질 1,000 mg/L의 농도에서 노출시켰을 때, 염류세포의 변화 및  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase의 활성저해와 아가미 손상이 발생하였다(Lee, 2015; Li & Shen, 2012). 무지개 송어(*Oncorhynchus mykiss*)는 부유물질에 노출되면 적혈구 용적률이 증가한다고 보고되었다(Reid et al., 2003). 은연어(*Onchorhynchus kisutch*)는 부유물질에 노출되면 혈중 코티졸 농도가 증가하였다(Redding et al., 1987). 넙치(체장 398 mm)에 대한 부유물질 농도 4,500 mg/L와 10,000 mg/L에서는 혈중 글루코스 농도가 증가하여 고갈이 되고 그로 인한 ATP의 부족으로 혈중 암모니아 농도가 상승하고 혈장 이온들이 증가하여 아가미가 파손되고 산소여과 실패에 의한 산소결핍으로 개체들이 사망하였다(Kawana et al., 2011). 이러한 결과로부터 어류는 부유물질의 종류나 부유상태 그리고 어종이나 어체의 크기에 따라 스트레스에 대한 반응이 다르게 나타난다고 판단된다.

본 연구의 Exp.3에서 설정된 농도 구간은 넙치의 몸을 바닥기질에 파묻는 습성과 타 연구의 반치사농도를 고려할 때 낮은 농도구간으로 판단된다. Exp.3에서 적혈구 용적률과 코티졸의 농도는 부유물질 농도 120 mg/L에서 증가했다가 부유물질 농도 240 mg/L에서 코티졸의 농도와 적혈구 용적률이 감소하는 경향을 나타내어 낮은 농도의 부유물질에서는 48시간동안에 적응을 하였지만, 120 mg/L에서는 적응하는데 48시간이상 소요되어서 높게 나타났다고 판단되었다. 생물들은 환경변화 요인에 순치될 경우, 환경변화가 급성변

화가 아니면 임계수준보다 넓은 범위에 적응이 가능해진다(Kim et al., 2011; Townsend et al., 2011).

본 연구에 나타난 스트레스에 대한 넙치의 생리반응인 코티솔의 농도와 적혈구 용적률은 양의 상관관계를 나타냈다. 이 결과로부터 집괴분석을 수행한 결과, 모든 실험구가 유사도 87.8%에서 3개 그룹으로 나누어 졌다([Fig. 5]).



[Fig. 5] A diagram illustrating the classification of sampling periods by analysis of cortisol concentration and hematocrit. T: Exp.1 (temperature); Sal: Exp.2(salinity); SS: Exp.3 (suspended solid); Number is level of each environment.

그룹1은 수온실험구(Exp.1)과 염분실험구(Exp.2)의 30 psu 실험구(Sal30)로 묶였고 그룹2는 유사도 90.7%로 부유물질실험구(Exp.3)의 부유물질 농도 120 mg/L 실험구(SS120)를 제외한 나머지 그룹으로 묶였다. 집괴분석의 결과를 고려하면 과거에 경험한 수온변화에는 적응하는 시간이 짧고 경험이 없는 환경변화인 염분변화나 부유물질농도변화에는 적응하는데 시간이 상대적으로 많이 소요된다고 판단된다. 특히 스트레스를 받은 부유물질 120 mg/L 실험구에서는 적응하는데 많은 시간이 소요되었다고 판단된다. 본 연구 결과 저수온에서 사육한 넙치는 순치가 된 수온보다는 경험하지 못한 환경변화 염분과 부유물질에 더욱 스트레스를 받는다고 판단되고 염류세포가 있어서 염분조절이 가능한 환경변화보다는 부유물질

에 대하여 더욱 스트레스를 받는다고 판단된다.

## References

- An, K. W. · Shin, H. S. · Min, B. H. · Kil, G. S. and Choi, C. Y.(2010). Profiles of glucocorticoid receptor mRNA expression and physiological changes in response to osmotic and thermal stress conditions in black porgy (*Acanthopagrus schlegelii*). Korean Journal of Ichthyology, 22(1), 17~24.
- Baba, Y. · Kawana, K. · Handa, T. · Iwata, N. and Namba, K.(2006). Eco-physiological effects of suspended solids on fish-effects of smectite on the survival of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Nippon Suisan Gakkaishi, 72(3), 408~413.
- Barton, B. A. and Iwama, G. K.(1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases, 1, 3~26.
- Berry, W. · Rubinstein, N. · Melzian, B. and Hill, B.(2003). The biological effects of suspended and bedded sediment (sabs) in aquatic systems: A review. Rhode Island, USA: US Environment Protection Agency, National Health and Environmental Health Effects Laboratory.
- Bolasina, S. · Tagawa, M. · Yamashita, Y. and Tanaka, M.(2006). Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder. *Paralichthys olivaceus*, Aquaculture, 259, 432~443.
- Chang, K. N.(2002). Fish culture, Seoul, Samkwang Publish.
- Chang, Y. J. · Hur, J. W. · Lim, H. K. and Lee, J. K.(2001). Stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) and fat cod (*Hexagrammos otakii*) by the sudden drop and rise of water temperature. Journal of the Korean Fisheries Society, 34(2), 91~97.
- Chang, Y. J. · Park, M. R. · Kang, D. Y. and Lee, B. K.(1999). Physiological responses of cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) on series of lowering seawater temperature sharply and continuously. Korean Journal of Fisheries and



- Aquatic Science, 32(5), 601~606.
- Daniels, H. V. and Watanabe, W. O.(2010). Practical flatfish culture and stock enhancement. Iowa, Blackwell Publishing.
- Davis, K. B. · Torrance, P. and Parker, N. C.(1990). Physiological stress in striped bass: effect of acclimation temperature. *Aquaculture* 91, 349~358.
- Han, H. K. · Kang, D. Y. · Jun, C. Y. and Chang, Y. J.(2003). Effect of salinity change on physiological response and growth of yearling sea bass, *Lateolabrax japonicus*. *Journal of Aquaculture*, 16(1), 31~36.
- Hiroi, J. · Sakakura, Y. · Tagawa, M. · Seikai, T. and Tanaka, M.(1997). Developmental changes in low-salinity tolerance and responses of prolactin, cortisol and thyroid hormones of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Zoological Science*, 14, 987~992.
- Hur, J. W. · Chang, Y. J. · Lee, B. K. and Lee, J.(2003). Effects of hypo-salinity on physiological response, survival and growth of cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Korean Journal of Ichthyology*, 15(2), 77~86.
- Hur, J. W. · Lee, B. K. · Chang, Y. J. · Lee, J. K. · Lim, Y. S. · Lee, J. H. · Park, C. H. and Kim, B. K.(2002). Stress responses of olive flounder *Paralichthys olivaceus* to hyposalinity. *Journal of Aquaculture*, 15(1), 69~75.
- Hur, J. W. · Lee, J. Y. · Kim, Y. H. · Park, I. S. and Chang, Y. J.(2006). Effects of salinity on hematological changes and survival of cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Korean Journal of Environment Biology*, 24(4), 380~386.
- Iwata, N. · Yokoyama, S. · Tanaka, K. · Kawana, K. and Namba, K.(2011). Eco-physiological effects of suspended solids on fish—lethal effects of clay mineral suspension on japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in relation to the mineral composition and suspending method of clay mineral products. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 77(2), 215~222.
- Jung, S. H. and Seo, J. S.(2016). Residues of thiamphenicol in blood of cultured olive flounder and black rockfish treated by single oral administration. *JFMSE*, 28(3), 692~700.
- Kang, S. J. · Kwon, H. C. · Kim, D. J. · Kim, M. H. · Kim, Y. · Son, Y. C. · Yeo, I. K. · Chun, J. K. and Han, C. H.(2007). *Fish physiology*. Bioscience press.
- Kawana, K. · Iwata, N. · Handa, T. · Baba, Y. · Uematsu, K. and Namba, K.(2011). Blood properties of the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) exposed to smectite suspended in seawater. *Aquaculture Science*, 59(2), 207~214.
- Kim, K. D. · Kim, K. W. · Lee, B. J. and Han, H. S.(2016). Effects of water temperature and feeding rate on growth and body composition of grower olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *JFMSE*, 28(3), 611~618.
- Kim, K. W. · Kwon, M. G. · Kim, K. D. · Son, M. H. · Park, M. A. and Kim, S. K.(2010). Effects of extruded pellet on growth and health parameters in farm cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *JFMSE*, 22(4), 529~536.
- Kim, M. J. · Chung, S. C. and Song, C. B.(2004). Effect of salinity on growth and survival of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Korean Journal of Ichthyology*, 16(1), 100~106.
- Kim, P. K. · Kim, J. W. · Park, J. · Seong, K. B. and Kim, H. J.(2011). Seawater adaptability of land-locked masu salmon *Oncorhynchus masou masou* by acclimation the seawater adaptability of land-locked masu. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 44(6), 753~758.
- Kim, S. S. · Kim, K.W. · Kim, K.D. · Lee, B.J. · Lee, J. H. · Han, H. S. · Kim, J. W. and Lee, K. J.(2014). Comparison of extruded and moist pellets for growth performance, water quality and histology of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *JFMSE*, 26(3), 667~675.
- Kim, W. S. · Yoon, S. J. · Kim, J. W. · Lee, J. A. and Lee, T. W.(2006). Metabolic response under different salinity and temperature conditions for glass eel *Anguilla japonica*. *Marine Biology*, 149, 1209~1215.
- Kim, W. S. · Yoon, S. J. · Moon, H. T. and Lee, T. W.(2002). Effects of water temperature changes on the endogenous and exogenous rhythms of oxygen consumption in glass eels *Anguilla japonica*, *Marine Ecology Progress Series*, 243, 209~216.
- Kjelland, M. E. · Woodley, C. M. · Swannack, T. M. and Smith, D. L.(2015). A review of the potential

- effects of suspended sediment on fishes: Potential dredging-related physiological, behavioral, and transgenerational implications. *Environment Systems and Decisions*, 35, 334~350.
- Lee, K. S.(2015). Review on the biological effects of suspended solids on shellfish, fish, and seaweed. *Journal of the Korean Society of Marine Environment & Safety*, 21(1), 109~118.
- Li, Y. and A. Shen(2012), Gill damage and recovery in juvenile black sea bream *Acanthopagrus schlegelii* stressed by uncontaminated suspended solids. *Advanced Materials Research*, 518~523, 5047~5054.
- Min, B. H. · Park, M. S. · Myeong, J. I. and Hwang, H. K.(2013). Physiological stress responses in black seabream *Acanthopagrus schlegelii* subjected to acute hypoxia. *Korean Journal of Fishery Aquatic Science*, 46(8), 819~826.
- Minami, T.(1982). The early life history of a flounder *Paralichthys olivaceus*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48, 1581~1588.
- Ministry of Oceans and Fisheries(2013). Seawater standard operation process. Retrieved from <http://www.law.go.kr/>
- Myeong, J. I. · Kang, D. Y. · Kim, H. C. · Lee, J. H. · Noh, J. K. and Kim, H. C.(2011). Changes of stress response and physiological metabolic activity of flounder, *Paralichthys olivaceus* following to food deprivation and slow temperature descending. *Korean Journal of Ichthyology*, 23(2), 87~94.
- Ohata, R. · Masuda, R. · Takahashi, K. and Y. Yamashita(2013). Moderate turbidity enhances schooling behaviour in fish larvae in coastal waters. *ICES Journal of Marine Science*, 71, 925~929.
- Ohata, R. · Masuda, R. · Ueno, M. · Fukunishi, Y. and Yamashita, Y.(2011). Effects of turbidity on survival of larval ayu and red sea bream exposed to predation by jack mackerel and moon jellyfish. *Fisheries Science*, 77, 207~215.
- Parihar, M. S. · Dubery, A. K. · Javeri, T. and Prakash(1996). Changes in lipid peroxidation, superoxide dismutase activity, ascorbic acid and phospholipid content in liver of freshwater carfish *Heteropneustes fossilis* exposed to elevated temperature. *Journal of Thermal Biology* 21(5/6), 323~330.
- Park, M. R. · Chang, Y. J. and Kang, D. Y.(1999). Physiological response of the cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) to the sharp changes of water temperature. *Journal of Aquaculture*, 12(3), 221~228.
- Perry, S. F. and Reid, S. D.(1993).  $\beta$ -adrenergic signal transduction in fish: interactive effects of catecholamines and cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry*. 11(1~6), 195~203.
- Pickering, A. D.(1992). Rainbow trout husbandry: Management of the stress response, *Aquaculture*, 100(1), 125~139.
- Popper, A. N. · Plachta, D. T. T. · Mann, D. A. and Higgs, D.(2004). Response of clupeid fish to ultrasound: A review. *ICES Journal of Marine Science*, 61, 1057~1061.
- Redding, J. N. · Schreck, C. B. and Everest, F. H.(1987). Physiological effects on coho salmon and steelhead of exposure to suspended solids. *Transactions of the American Fisheries Society*, 116(737~744).
- Reid, S. G. · Bernier, N. J. and Perry, S. F.(1998). The adrenergic stress response in fish: Control of catecholamine storage and release. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 120, 1~27.
- Reid, S. M. · Isaac, G. · Metikosh, S. and Evans, J.(2003). Physiological response of rainbow trout to sediment released during open-cut pipeline water crossing construction. *Water Quality Research Journal of Canada*, 38, 473~481.
- Sherk, J. A. · O'connor, J. M. and Neumann, D. A.(1975). Effects of suspended and deposited sediments on estuarine environments. In: CRONIN, L. E. (ed.) *Estuarine research*. New York: Academic Press.
- Shin, M. J. · Kim, J. S. · Hwang, Y. H. · Lee, J. E. and Seo, E. W.(2008). Effect of turbidity changes on tissues of *Zacco koreanus*. *Korean journal of limnology*, 41(1), 73~80.
- Shin, M. J. · Lee, C. · Lee, J. E. and Seo, E. W.(2006). Effect of turbidity changes on antioxidant enzyme activity of *Carassius auratus* tissues. *Korean Journal of Environmental Biology*, 24(2), 119~125.
- Townsend, C. R. · Begon, M. and Harper., J. L.(2011). *Essentials of ecology*, 3rd edition. John Wiley & Sons.

- Yoon, M. J. · Lee, J. D. · Kang, K. H. · Park, S. Y. and Kim, J. G.(2016a). Physicochemical properties of olive flounder *Paralichthys olivaceus*, red seabream *Pagrus major* and jacopever *Sebastes schlegeli*. JFMSE, 27(5), 1447~1456.
- Yoon, S. J. and Park, G. S.(2011). Ecotoxicological effects of the increased suspended solids on marine benthic organisms. Journal of the Environmental Sciences, 20(11), 1383~1394.
- Yoon, S. J. · Chin, B. S. and Park, G. S.(2016b). Physiological response of parrot fish (*Oplegnathus fasciantus*) and bivalve (*Gomphina melanaegis*) by lowering water temperature exposure, JFMSE, 28(1), 1~13.
- Yoon, S. J. · Kim, C. K. · Myoung, J. G. and Kim, W. S.(2003). Comparison of oxygen consumption patterns between wild and cultured black rockfish *Sebastes schlegeli*. Fishery Science, 69, 43~49.
- 
- Received : 28 December, 2017
  - Revised : 02 February, 2018
  - Accepted : 08 February, 2018