



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

벤자리(*Parapristipoma trilineatum*)의
혈액 생리학적 변화에 미치는 수온
스트레스의 영향

濟州大學校 産業大學院

海洋生物工學科

洪性元

2018年6月

벤자리(*Parapristipoma trilineatum*)의
혈액 생리학적 변화에 미치는 수온
스트레스의 영향




指導教授 呂寅圭

洪性元

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함

2018 年 6 月

洪性元の 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長	이영돈	
委員	김준범	
委員	여인규	

濟州大學校 産業大學院

2018 年 6 月

The effect of water temperature
stress on blood physiology in
chicken grunt (*Parapristipoma
trilineatum*)

Sung-Won Hong
(Supervised by professor In-Kyu Yeo)

A thesis submitted in partial fulfillment of the
requirement for the degree of Master of Science

2018. 6.

This thesis has been examined and approved.

Department of Marine Life Sciences

GRADUATE SCHOOL
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

목 차	i
List of Figures	iii
Abstract	vi
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	
1. 실험동물 및 사육조건	3
2. 체중변화 및 생존율	4
3. 혈액 생리학적 분석	5
4. 면역 생리학적 분석	6
4-1. Lysozyme 활성 분석	6
4-2. Phenoloxidase(PO) 활성 분석	6
5. 통계 처리	7
III. 결과	
1. 체중변화 및 생존율의 변화	8
2. 혈액 생리학적 분석 결과	10
2-1. 혈액 생리학적 변화	10
2-2. 혈액 내 이온 농도 및 삼투압 변화	16
3. 면역 생리학적 변화	23
3-1. Lysozyme 활성 변화	23
3-2. Phenoloxidase(PO) 활성 변화	24
IV. 고찰	25

V. 참고 문헌	28
VI. 감사의 글	35

List of Figures

- Figure 1. The pictures of experimental tank used breeding experiment by temperature in chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*.
- Figure 2. Growth performance of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum* reared at different water temperatures for 15 days.
- Figure 3. Analysis of AST in serum of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).
- Figure 4. Analysis of AST in serum of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).
- Figure 5. Analysis of total protein(TP) in serum of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).
- Figure 6. Analysis of TG in serum of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).
- Figure 7. Analysis of glucose in serum of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between

the values ($P < 0.05$).

Figure 8. Na level in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*.

Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

Figure 9. Potassium(K^+) level in plasma of chicken grunt *Parapristipoma*

trilineatum. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

Figure 10. Chloride(Cl) level in plasma of chicken grunt *Parapristipoma*

trilineatum. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

Figure 11. Magnesium(Mg) level in plasma of chicken grunt

Parapristipoma trilineatum. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

Figure 12. Calcium(Ca) level in plasma of chicken grunt *Parapristipoma*

trilineatum. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

Figure 13. Osmotic pressure level in plasma of chicken grunt

Parapristipoma trilineatum. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

Figure 14. Lysozyme activity in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

Figure 15. PO in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

Abstract

In this study, we investigated the physical effect of water temperature change by water temperature stress in blood of chicken grunt (*Parapristipoma trilineatum*). Result of growth at high temperature was highest at 4.8% in 30°C group. Blood biochemical changes showed high levels of AST and ALT at high temperature, suggesting that hepatic damage was induced by high temperature. Total protein(TP) was significantly higher in 30°C group than other groups. Triglyceride(TG) showed at lower temperature of 15°C and 25°C, higher than control 20°C, and higher than 30°C, respectively. Glucose were 93 ± 23.33 mg/dL at 15°C, 85 ± 27.99 mg/dL at 20°C, 79.8 ± 24.97 mg/dL at 25°C and 99.5 ± 3.53 mg/dL at 30°C, respectively. Ca²⁺ were 12.42 ± 2.85 mg/dL at 15°C, 12.92 ± 0.77 mg/dL at 20°C, 12.4 ± 1.20 mg/dL at 25°C and 15.85 ± 0.21 mg/dL at 30°C. This result was significant difference in 30°C group. Lysozyme activity tended to decrease with increasing water temperature and no significant difference between individuals. Result of lysozyme, which is the most innate immunity, according to increasing of water temperature PO activity is increased rather than decreased. The osmolality results were 414.2 ± 22.43 mOsm/l at 20°C and 429.8 ± 34.92 mOsm/l and 433.8 ± 34.92 mOsm/l at 15°C and 25°C respectively and 412.8 ± 18.39 mOsm/l. at 30°C It was observed that no significant between control 20°C in all experiment groups.

I. 서론

최근 지구 온난화의 영향으로 인해 우리나라 서,동, 남해 해역의 표층 수온의 지속적인 상승이 보고되었으며(Seong et al., 2010), 특히 제주 연안해역의 표층 수온이 남해안의 표층수온 보다 더 높다고 알려져 있다(Min and Kim,2006). 또한 전 세계 평균수온이 산업혁명 이전인 지난 세기와 비교하여 0.76℃ 증가하고 향후 100년 이내에는 2℃ 이상 해수 수온이 증가될 것으로 예측하고 있다(Brewer, 1997, IPCC,2007). 이러한 영향으로 제주 연안에서는 관찰되지 않았던 아열대성 어류들의 출현이 증가하는 추세이다.

수온은 어류에 있어 성장과 번식, 분포에 중요한 영향을 미치는 요인 중 하나로 각 종마다 최적의 수온에 적응한다(Shamseldin et al.,1997), 어류에 있어 수온 변화는 어류의 대사, 삼투압 조절 및 면역 등의 생명활동에 변화를 초래하며 최종적으로 생명 유지도 위협하는 것으로 알려져 있다(Logue et al., 1995). 또한 수온 상승으로 인해 생물의 생존, 생리, 성장, 그리고 성숙 등에 영향을 미치는데 갑오징어에서는 metabolic이 감소하며, 전복에서는 성 성숙이 억제되는 결과를 나타냈으며(Potner et al., 2005; Mueter and Litzow, 2008; Parker et.al., 2013), 스트레스 증가 및 면역력 감소로 인해 성장률의 저하 및 폐사율의 증가도 나타냈다(Seikai et al., 1986; Fonds, 1979; Maccarthy et al., 1998; Choi et al., 2011).

한편 벤자리(*Parapristipoma trilineatum*)는 농어목 하스돔과에 속하고 바위 지대에 서식하며 제주도와 추자도, 전남 홍도 등 여름철에서 초가을에 주로 활동하며 제주도의 토속어종으로 지정이 되어 있다. 제주 신양리 연안 인공어초 주변해역에서 서식하는 어류의 종 조성 및 계절변동을 조사한 결과, 2년간의 조사시기마다 3회 이상 출현한 19종들을 대상으로 집괴 분석을 수행하였고 5개 그룹(그룹 1 : 조사시기마다 계속 출현; 그룹 2 : 조사기간 동안 주로 출현; 그룹 3 : 수온이 증가하는 7월, 9월; 그룹 4 : 수온이 다소 감소하는 9월, 12월 그리고 3월; 그룹 5 : 특정 조사시기와 무관하게 소량 출현)으로 나누었는데, 그 결과 벤자리는 소량 출현하였던 4번째 그룹으로 첫해보다 다음해에 출현빈도가 감소하였으며 수온이 다소 감소하는 9월, 12월, 3월에 주로 발견되었다고 나타냈다

(Kim et al., 2011). 이러한 출현 양상의 변화는 최근 가속화 되어가고 있는 아열대 환경으로 인해 개체수가 줄어든 영향으로 판단되나 여기에 대한 개체수 변화에 대한 연구는 미미한 형편이다.

따라서 본 연구에서는 벤자리(*P. trilineatum*)의 개체수 변화와 수온과의 상관관계를 파악하기 위하여 6월 제주도 해역 평균 수온인 20℃ 를 대조구로 설정하여 저수온 15℃ 와 고수온 25℃, 30℃ 총 4가지의 수온 환경에서의 생리학적 변화를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 사육조건

본 실험에서는 평균 무게 187.8 ± 20.4 g 인 벤자리를 사용하였으며, 각 실험구에 각각 20미씩 수용하여 실험을 실시하였다. 실험 사육수는 1ton 유리 사육조에서 수중펌프로 이용하여 물리적 화학적 여과를 하는 sand filter로 여과하여 사용하였다. 여과 된 사육수는 수온 조절장치를 이용하여 15°C, 20°C, 25°C 그리고 30°C의 수온을 유지하였다. 사육 시 D.O 그리고 pH는 각각 35.0 ± 0 %과 8.0 ± 0 ppm으로 모든 실험군에서 동일하게 유지하였다. 실험은 총 15일간 진행되었으며, 사육기간 동안 수온에 따른 실험구별 먹이섭취의 정도 차이가 영양대사의 변화를 초래할 가능성이 있어 본 실험에서는 먹이공급을 하지 않고 수온에 따른 영양대사 변화에 따른 혈액 생리학적 변화만을 분석하고자 하였다.

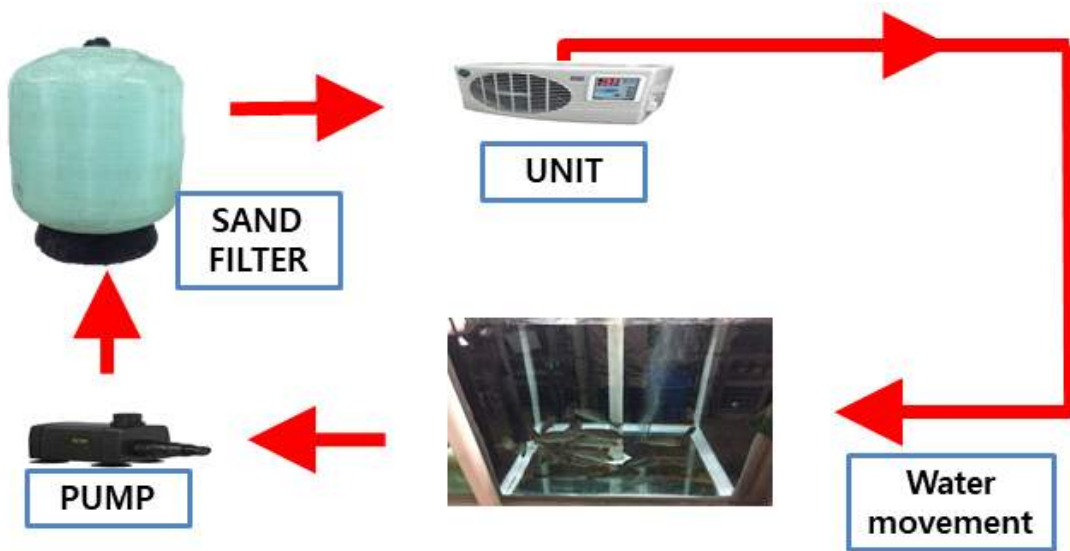


Fig. 1. The pictures of experimental tank used breeding experiment by temperature in chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*.

2. 체중변화 및 생존율

수온 변화로 인한 어류의 체중변화 및 생존율을 조사하기 위해 실험 시작과 종료 시점인 15일 후에 개체들을 각각 체장과 체중을 측정하였다. 또한 수온에 따른 실험어의 생존율은 $(\%SR) = (\text{실험 종료 시 생존 개체량} / \text{최초 실험 시작 시 생존 개체량}) \times 100$ 의 식의 방식에 따라 계산하였다.

3. 혈액 생리학적 분석

혈액은 15일간의 사육실험 종료 후, 각 그룹의 10마리 실험어에 2-phenoxyethanol로 마취 후 3ml 주사기로 개체들의 미부정맥에서 채취하였다. 채취한 혈액은 2,500 rpm, 10분 원심분리하여 상층액인 혈청을 분리 후 새로운 1.5 ml e-tube로 옮겨, -50°C 에 보관한 후 분석을 실시하였다.

혈액생화학적 분석은 생화학분석기(VET TEST 8008)를 이용하여 Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST), Total protein (TP), Triglyceride (TG) 및 Glucose (GLU)를 조사하였다. 또한, 혈중의 이온 변화를 파악하기 위하여 Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} 그리고 Ca^{2+} 를 각각 분석하였다. 혈액 내의 삼투압은 삼투압 측정기(Vapor Pressure Osmometer 5600)를 이용하여 분석을 실시하였다.

4. 면역 생리학적 분석

4-1. Lysozyme 활성 분석

Lysozyme 활성은 벤자리에서 분리한 혈청을 이용하여 96 well plate에 15 μ l씩 분주 후 150 μ l Micrococcus lysodeik-ticus solution (0.1 M phosphate buffer saline, pH=6.8)을 넣은 후, 5분간 25 $^{\circ}$ C 에서 반응 후 450 nm에서 실시하였고, 다시 5분 간 반응을 시킨 후에 위와 동일한 과장에서 흡광도를 측정하여 lysis 전 후의 흡광도 차이를 비교하여 측정하였다. Lysozyme 활성 단위(U)는 흡광도 0.001/min의 감소치를 1 unit으로 확인하였다.

4-2. Phenoloxidase(PO) 활성 분석

Phenoloxidase(P.O) 활성은 Ashida 와 Dohke (1980) 의 방법을 응용하여 벤자리에서 분리한 혈청 15ml에 0.1M phosphate buffer(pH 7.4) 150 μ l를 96 well plate 에 넣고 잘 혼합 한 뒤 0.01M L-DOPA 150 μ l를 넣은 후 배양기에서 25 $^{\circ}$ C로 10분간 반응을 시킨 후 5분 동안 490nm 로 흡광도를 측정하였다. 단위(U)는 흡광도 0.001/min의 감소치를 1 unit으로 확인하였다.

5. 통계 처리

본 실험의 모든 결과는 SPSS version 21 (SPSS Inc., USA)을 활용하여 One-way ANOVA-test 로 통계 분석을 실시하였다. 데이터 값의 유의차는 Duncan's multiple test 사후분석을 실시하여 측정하였으며, $P < 0.05$ 에서 유의성을 판단하였다.

Ⅲ. 결과

1. 체중변화 및 생존율의 변화

4개의 다른 수온 환경에서 벤자리를 15일간 절식시켜 사육을 실시 후 개체들의 체중변화 및 생존율을 측정하였다. 그 결과 전체적인 생존율에서 95% 이상으로 나타났으며, 고수온인 25℃ 및 30℃ 실험구에서 사육도중 수조 탈출에 의해 폐사하여 수온에 따른 폐사는 모든 실험구에서 나타나지 않았다(Fig. 1). 절식 후 체중 변화를 조사한 결과 전체적으로 체중의 감소가 나타났으며, 저수온 15℃는 98.4%, 20℃는 97.4%, 25℃는 97.8% 그리고 30℃에서는 95.2 %의 결과를 나타냈다. (Fig. 2)

고수온인 30℃에서는 4.8%로 가장 많은 체중 감소가 나타났는데 일반적으로 수온 상승에 따라서 스트레스 작용으로 인한 호흡률의 증가 등의 대사 활성이 증가함에 따라 에너지 소모가 증가하여 체중의 감소폭이 더 큰 것으로 추정된다.

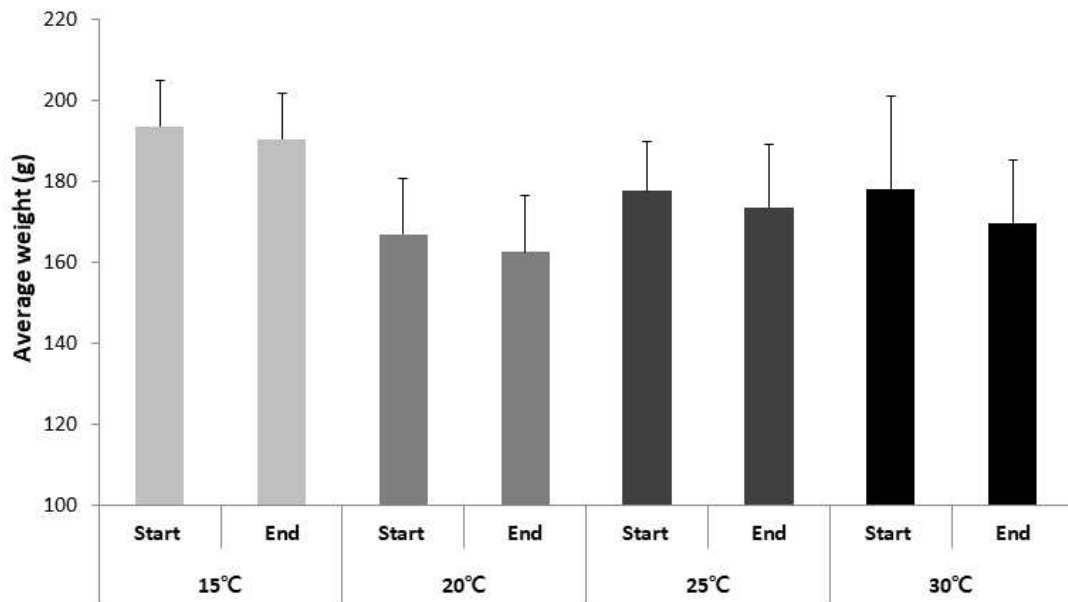


Fig. 2. Growth performance of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. reared at different water temperatures for 15 days.

2. 혈액 생리학적 분석 결과

2-1. 혈액 생리학적 변화

일반적으로 Aspartate amino transferase (AST)와 Alanine amino transferase (ALT)는 간세포 손상이나 장애를 암시하는 효소로 알려져 있다 (Gordon, 1968). AST의 경우 15℃에서 33.5 ± 11 U/L, 25℃에서 24.8 ± 5.63 U/L로 대조구인 20℃의 62.25 ± 46.60 U/L에 비해 낮게 나타났고 고수온인 30℃에서는 125.5 ± 12.02 U/L로 타 실험구에 비해 유의하게 높게 나타났다(Fig. 3). ALT에서는 15℃에서 14.6 ± 4.56 U/L, 25℃는 11.4 ± 4.03 U/L로 대조구인 20℃의 20.25 ± 6.50 U/L에 비해 낮았으며, 고수온인 30℃에서는 33.5 ± 4.94 U/L로 AST와 동일하게 유의하게 높게 나타났다. 이러한 경향은 AST와 ALT 모두 고수온에 따른 벤자리의 간 손상이 유도 될 것으로 판단된다.

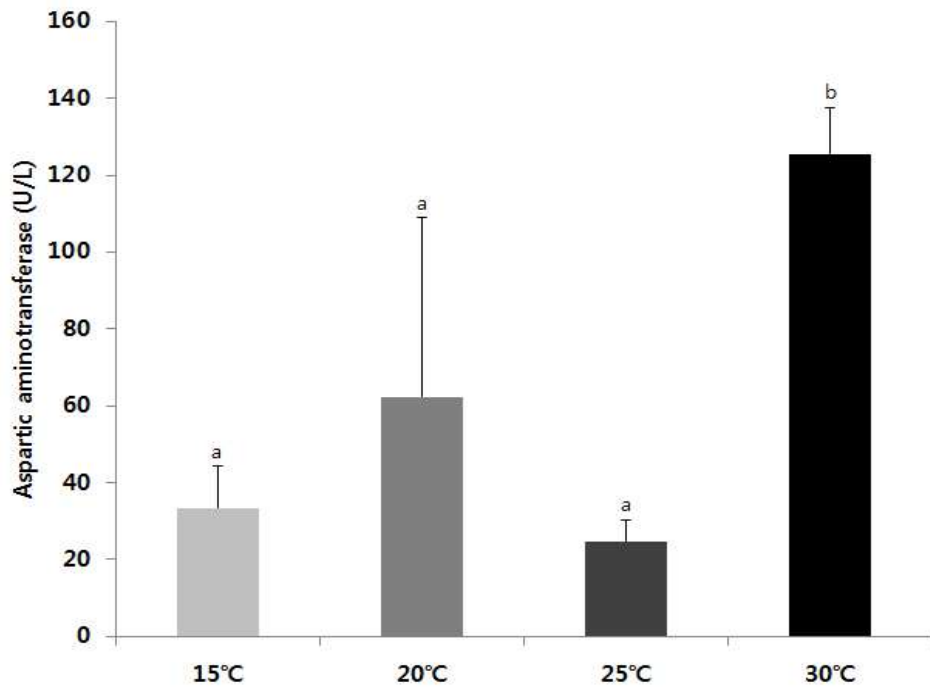


Fig. 3. Analysis of AST in serum of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

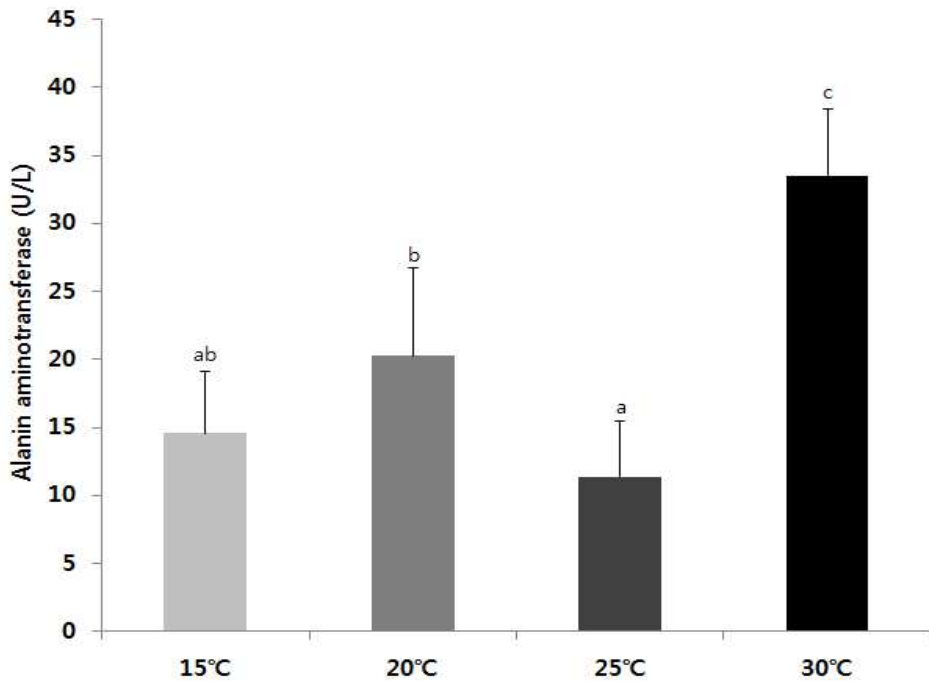


Fig. 4. Analysis of AST in serum of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

Total protein(TP) 또한 간 조직의 손상여부를 나타내는 지표로 실험 결과, 15℃ 에서 3.96 ± 0.71 g/dl, 20℃ 는 3.62 ± 0.75 g/dl, 25℃ 에서 3.74 ± 0.77 g/dl 그리고 30℃ 에서는 4.95 ± 0.49 g/dl로 나타냈다. 15℃ 와 25℃ 에 서 TP는 대조구인 20℃ 보다 낮은 수치를 나타냈다. 고수온인 30℃ 에서는 유의하게 높은 수치를 나타냈다(Fig. 5). 이러한 결과는 고수온과 같은 환경 스트레스가 작용하게 되면 혈중 TP가 증가되는 것과 유사한 결과를 나타내 고수 온이 벤자리 사육 환경에 스트레스 요인으로 작용하는 것으로 판단된다.

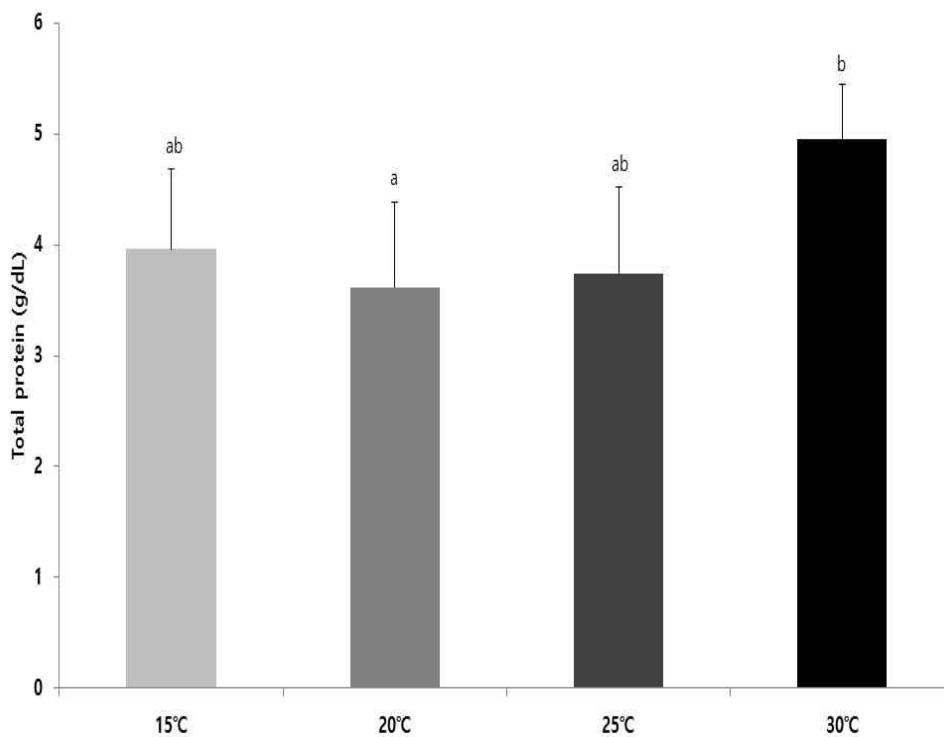


Fig. 5. Analysis of total protein(TP) in serum of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

Triglyceride(TG) 는 15℃ 에서 411.4 ± 198.11 mq/dL, 20℃ 는 294.2 ± 160.16 mq/dL, 25℃ 는 343.5 ± 133.26 mq/dL 그리고 30℃는 279.5 ± 28.99 mq/dL 로 나타냈다(Fig. 6). 저수온인 15℃ 와 25℃에서는 대조구인 20℃ 보다 높은 수치가 나타났고 고수온인 30℃ 에서는 대조구 보다 낮은 수치를 나타냈다. 이는 고수온으로 인한 생체 내 대사활성이 증가하여 혈중의 Triglyceride를 에너지원으로 활용함으로써 그 농도가 낮아지는 것으로 판단된다.

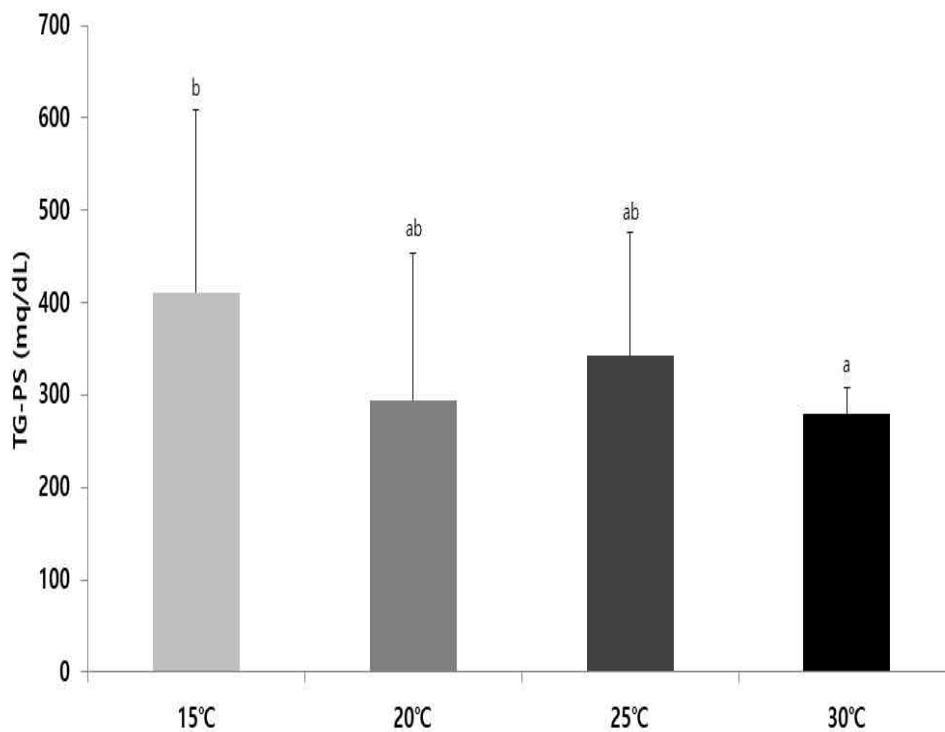


Fig. 6. Analysis of TG in serum of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean ± SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

혈중 glucose는, 15°C 에서 93 ± 23.33 mg/dL, 20°C 는 85 ± 27.99 mg/dL, 25°C 는 79.8 ± 24.97 mg/dL 그리고 30°C 에서 99.5 ± 3.53 mg/dL 를 나타냈으며(Fig. 7), 모든 실험구에서 유의한 차이는 나타나지 않았다.

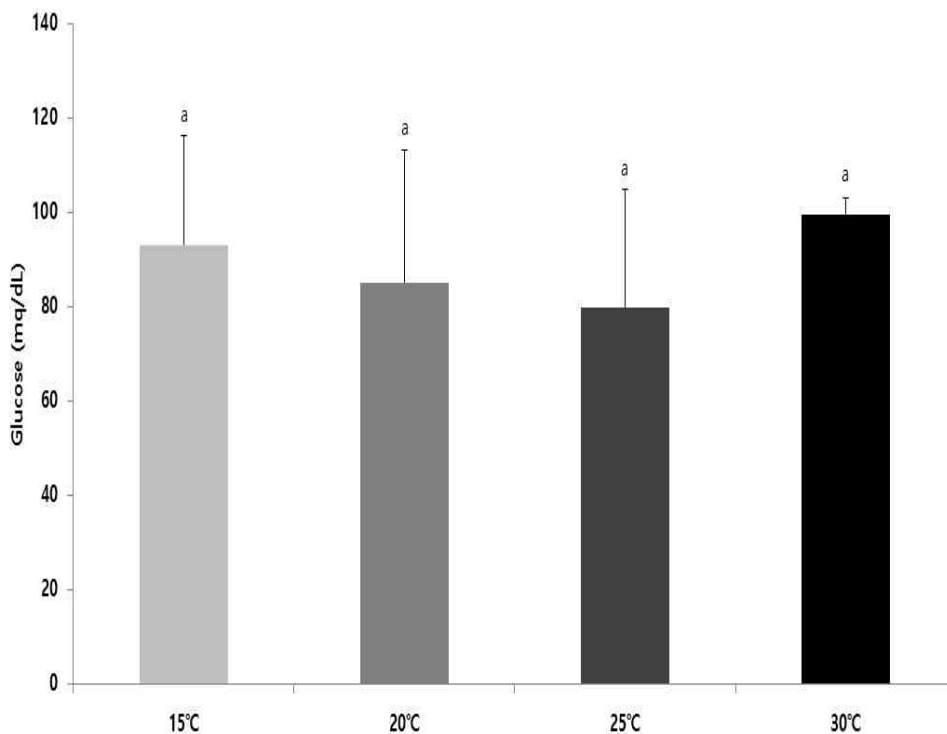


Fig. 7. Analysis of glucose in serum of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

2.2 혈액 내 이온 농도 및 삼투압변화

일반적으로 외부 스트레스로 인하여 혈중 이온 농도의 변화가 나타나는 것으로 알려져 있어(Schreck, 1982), 본 연구에서도 수온변화에 따른 혈중 이온 농도 Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} 그리고 Ca^{2+} 를 분석하였다. 그 결과 Na^+ 은 15°C 실험군에서 173.2 ± 11.56 mEq/L, 20°C에서 166 ± 6.44 mEq/L, 25°C에서 166.6 ± 7.92 mEq/L 및 30°C에서 181.5 ± 12.02 mEq/L 로 각각 나타냈으며 대조구와 비교하였을 때, 저수온 15°C와 25°C에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았지만, 고수온 30°C와는 유의적인 차이를 나타내 높게 나타났다(Fig. 8). K^+ 은 15, 20, 25 및 30°C에서 각각 5.16 ± 0.80 mEq/L, 5.68 ± 1.53 mEq/L, 4.92 ± 0.41 mEq/L 및 6.05 ± 0.21 mEq/L 를 나타냈고 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 9). Cl^- 의 경우 15°C에서 160 ± 3.16 mEq/L, 20°C에서 158 ± 10.09 mEq/L, 25°C에서 155 ± 3.24 mEq/L 및 30°C에서 165 ± 2.82 mEq/L 로 고수온인 30°C 에서 높게 나타났다(Fig. 10). Mg^{2+} 는 2.44 ± 0.46 mg/dL, 2.42 ± 0.69 mg/dL, 2.7 ± 0.45 mg/dL, 3.1 ± 0.14 mg/dL 로 각각의 결과를 나타냈고 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 11). Ca^{2+} 의 결과는 15°C에서 12.42 ± 2.85 mg/dL, 20°C에서 12.92 ± 0.77 mg/dL, 25°C에서 12.4 ± 1.20 mg/dL 및 30°C 에서 15.85 ± 0.21 mg/dL 로 저수온인 15°C 와 25°C 에서는 대조구인 20°C 와 유의적인 차이가 나타나지 않았지만 고수온인 30°C 에서는 유의적인 차이가 나타났다(Fig. 12).

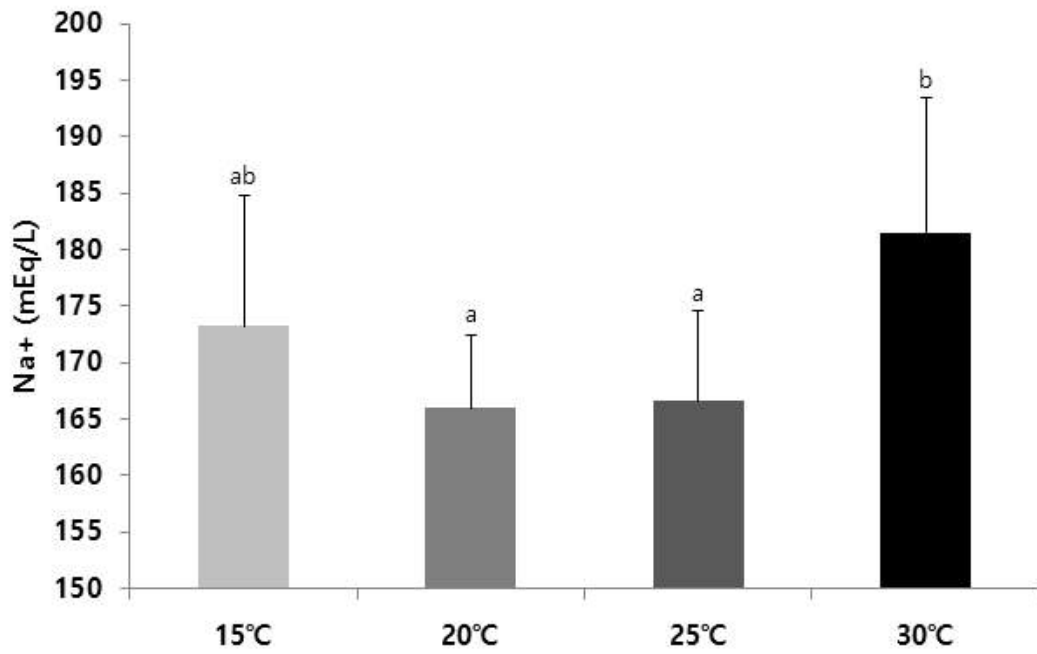


Fig. 8. Sodium(Na^+) level in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

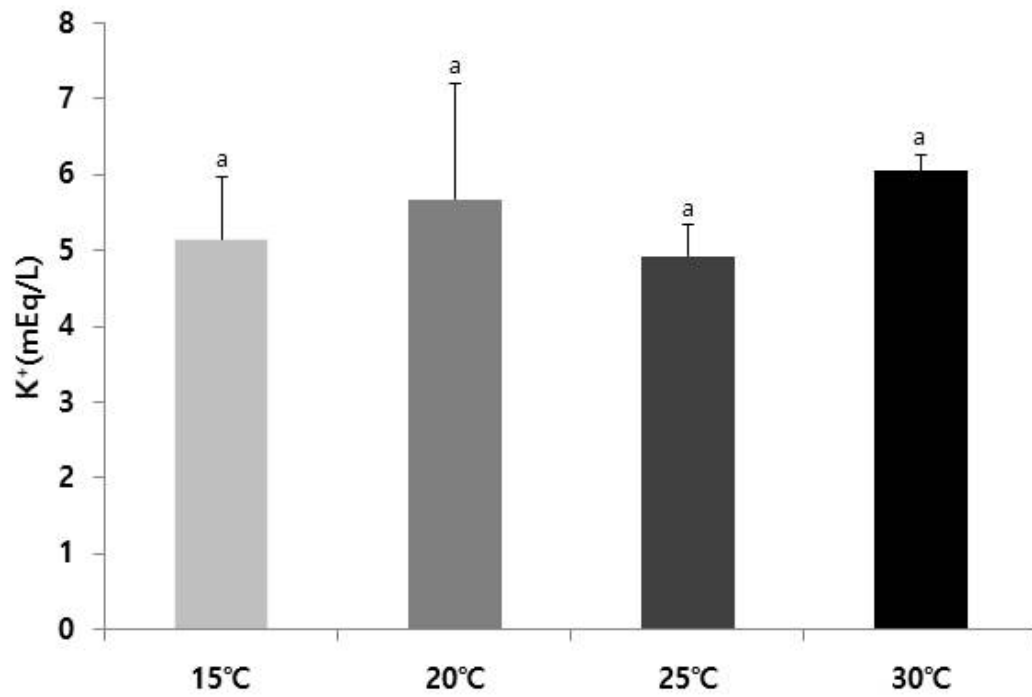


Fig. 9. Potassium(K⁺)level in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean ± SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

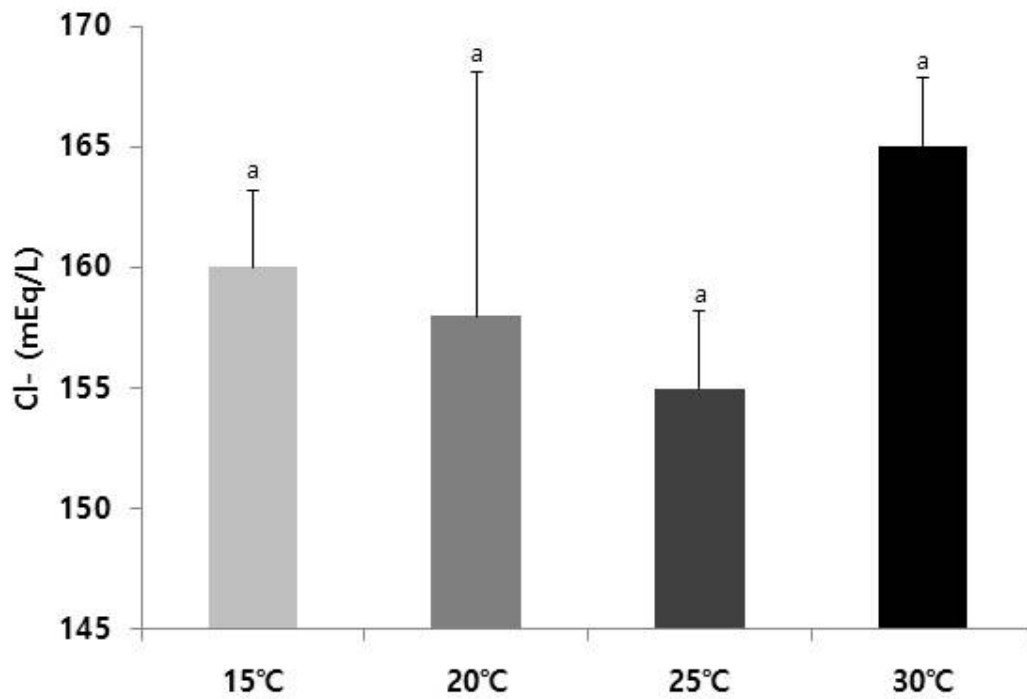


Fig. 10. Chloride(Cl^-) level in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

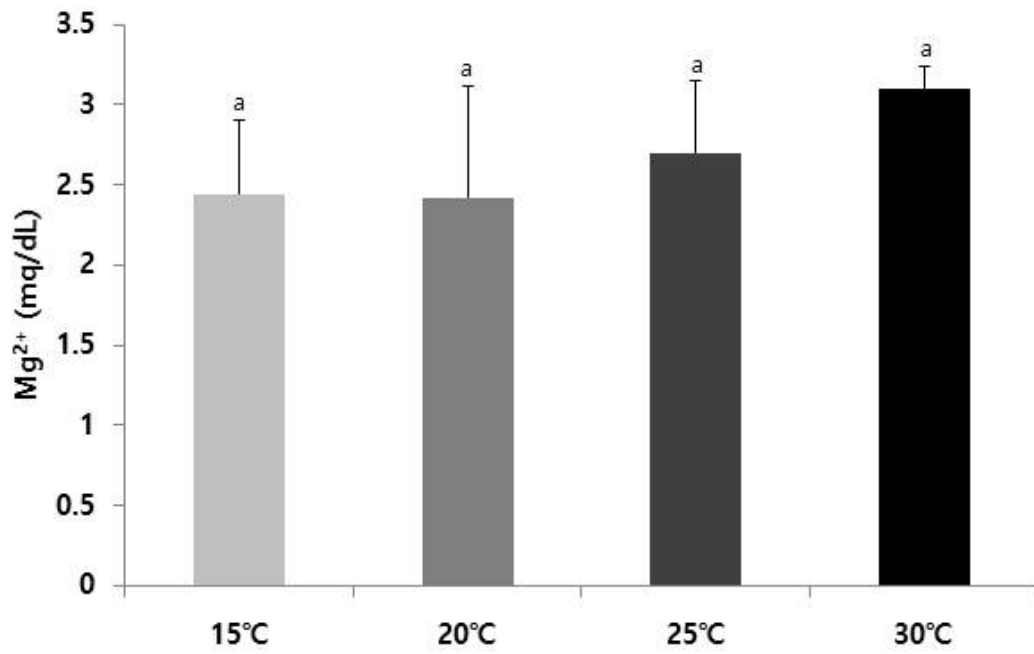


Fig. 11. Magnesium(Mg²⁺) level in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

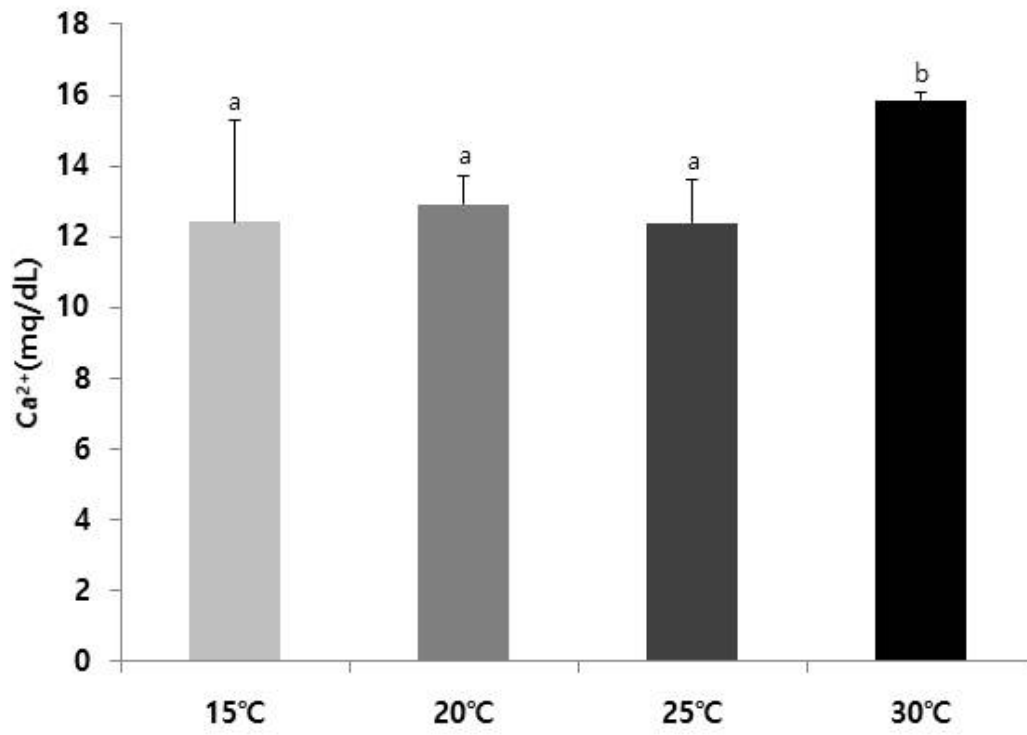


Fig. 12. Calcium(Ca²⁺) level in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

혈장 내 삼투압 측정 결과는 대조구인 20℃에서 414.2 ± 22.43 mOsm/l 로 나타났고 15℃ 및 25℃에서 각각 429.8 ± 34.92 mOsm/l 및 433.8 ± 34.92 mOsm/l 로 나타냈고 고수온인 30℃에서는 412.8 ± 18.39 mOsm/l 로 모든 실험구에서 대조구인 20℃ 와 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Fig. 13).

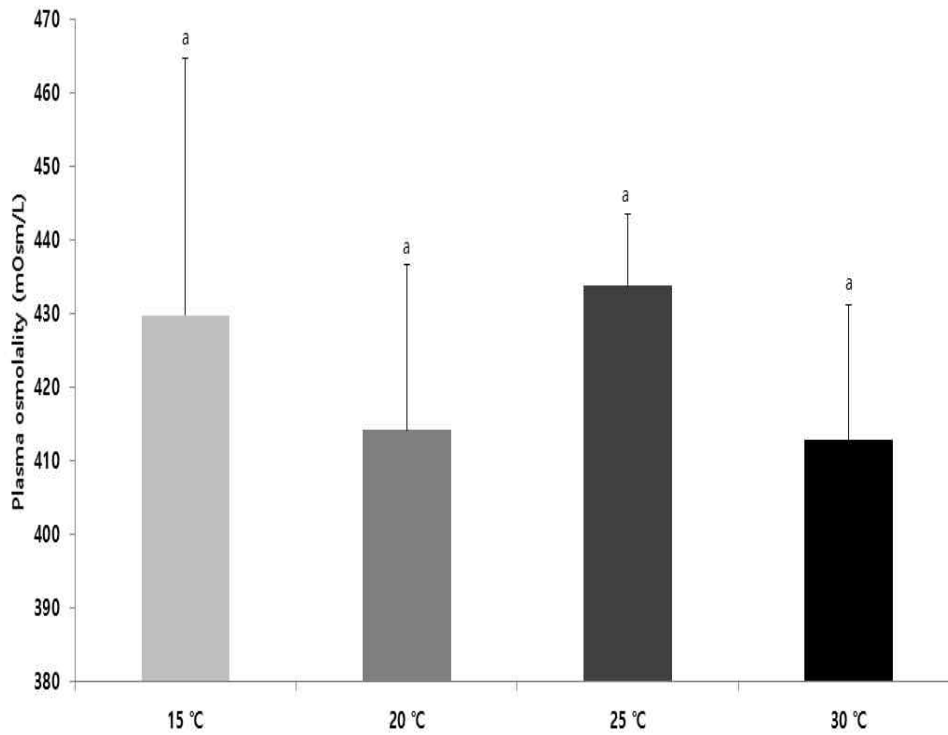


Fig. 13. Osmotic pressure level in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

3. 면역 생리학적 변화

3-1. Lysozyme 활성 변화

비특이적 면역활성 중 하나인 lysozyme 활성을 측정한 결과 저수온인 15°C 에서 $4.5 \times 10^{-2} \pm 1.8 \times 10^{-2}$ U/mL 로 나타냈고 대조구인 20°C 는 $3.4 \times 10^{-2} \pm 2.2 \times 10^{-2}$ U/mL, 25°C 는 $2.9 \times 10^{-2} \pm 1.8 \times 10^{-2}$ U/mL 그리고 고수온인 30°C 에서 $2.7 \times 10^{-2} \pm 1.6 \times 10^{-2}$ U/mL 로 수온 상승에 따른 Lysozyme activity 가 점차 감소하는 경향을 나타냈으며 개체간의 차이가 커 유의한 차이는 나타내지 않았다(Fig. 14).

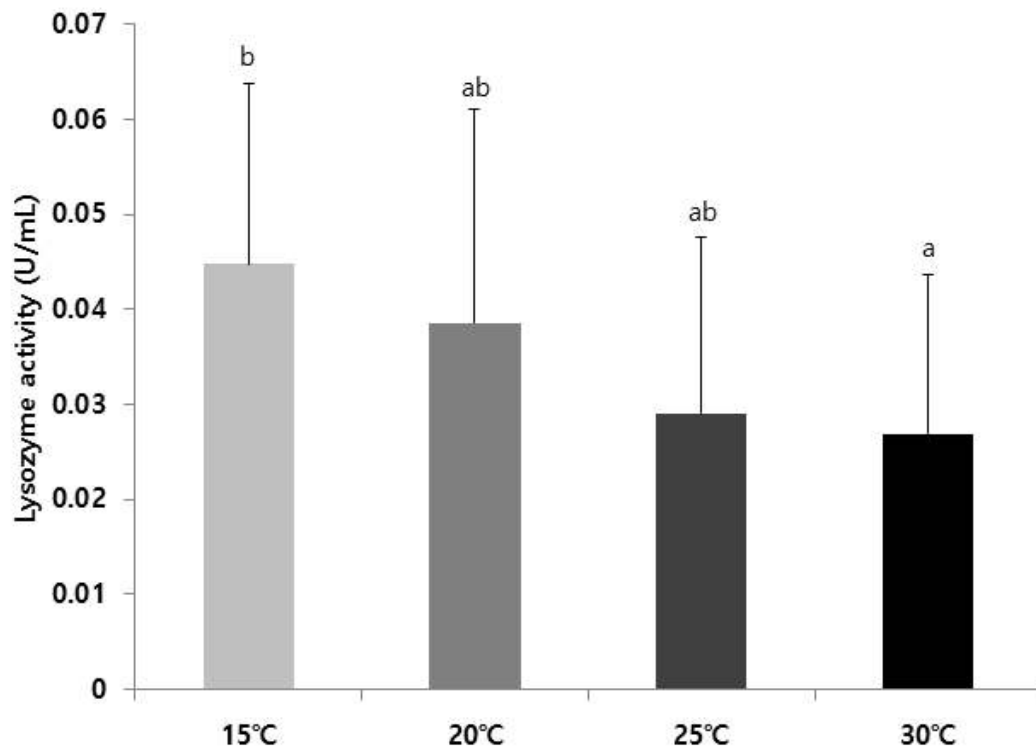


Fig. 14. Lysozyme activity in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

3-2. Phenoloxidase (PO) 활성 변화

PO 활성 분석 결과 대조구인 20°C에서는 $3.1 \times 10^{-3} \pm 1.5 \times 10^{-2}$ U/mg 그리고 저수온인 15°C 에서 $4.6 \times 10^{-3} \pm 2.1 \times 10^{-3}$ U/mg, 25°C에서 $4.5 \times 10^{-3} \pm 1.1 \times 10^{-2}$ U/mg 그리고 고수온인 30°C 에서 $3.6 \times 10^{-3} \pm 2.2 \times 10^{-2}$ U/mg 로 대조구인 20°C 보다 모두 높게 나타냈다(Fig. 15).

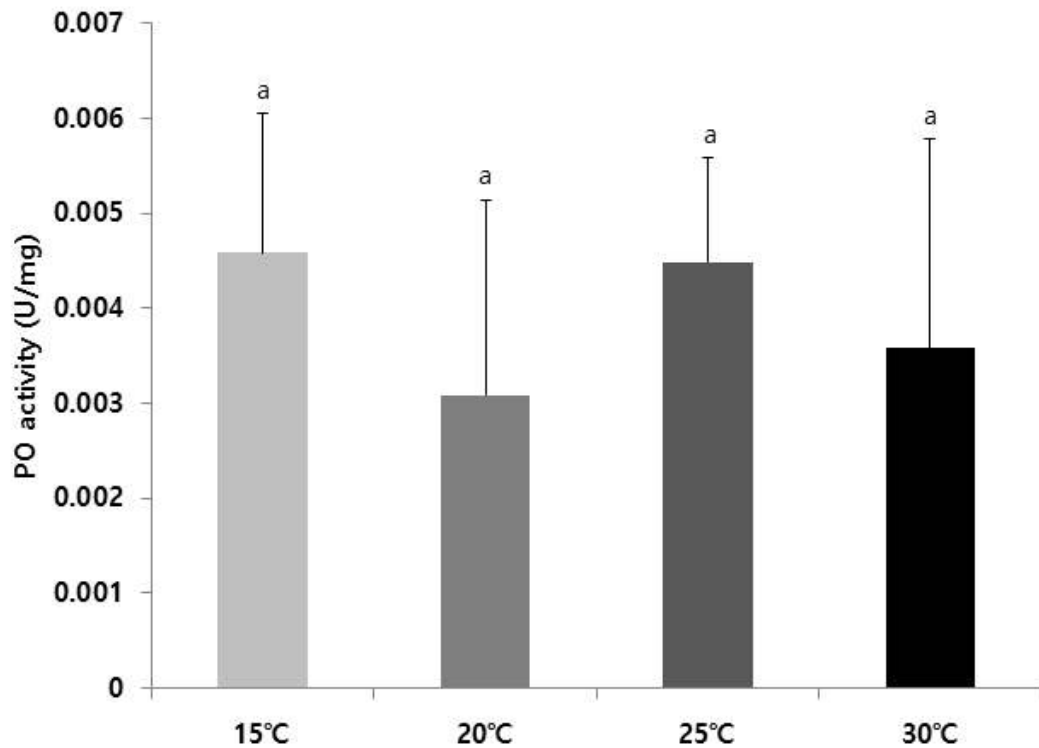


Fig. 15. PO in plasma of chicken grunt *Parapristipoma trilineatum*. Data are expressed as mean \pm SD, different superscript letters (a, b) indicate significant difference between the values ($P < 0.05$).

IV. 고찰

본 연구에서는 서로 다른 수온에서 벤자리(*P. trilineatum*)의 생리학적 변화에 어떤 영향을 미치는지에 관하여 관찰하였다. 본 연구 결과, 15일간 절식 후 성장 변화에 따른 결과들을 분석해본 결과 실험 종료 시점에서 전반적인 체중의 감소가 나타났고, 고수온인 30℃에서 가장 많은 체중 감소가 나타났는데 이러한 결과는 날새기 실험 결과는 수온 23℃, 33℃에서 수온이 증가함에 따라 성장이 증가하는 경향을 나타냈으나, 고수온인 35℃에서 오히려 성장이 감소한다는(Sun and Chen, 2009) 연구와 비슷한 결과를 나타냈다. 또한, 틸라피아와 메기의 경우도 사육 수온이 증가함에 따라 성장이 증가하다가 34℃와 32℃에서 각각 성장이 감소되었다고 보고되었다(Azaza et al., 2008; Costa et al., 2016). 본 실험에서도 수온이 상승함에 따라 단순절식에 의한 체중 감소현상이 더욱 높아졌는데 수온이 낮아지면 어류의 체내 대사율 감소로 성장이 저하되며(Fauconneau et al., 1983), 적정 범위 내 수온이 상승하면 대사율이 증가하여 성장이 촉진되지만, 적정수온보다 높은 수온에서는 스트레스 증가 및 면역력 감소로 성장률 저하 및 폐사율이 증가된다(Seikai et al., 1986; Choi et al., 2011)는 여러 연구 결과와 유사하여 고수온이 체내 대사율과 성장에 저하를 시킨다고 할 수 있다.

수온의 변화는 어류에게 1차적으로 스트레스를 유발하는데 혈액 내 cortisol의 분비가 증가하고 2차적으로 간세포 파괴에 의한 AST 및 ALT, glucose의 증가가 보고되었으며(Park et al., 2016), AST와 ALT는 간을 비롯한 체내의 장기에 존재하는 아미노산 합성 효소로, 간과 특정 장기가 손상을 입을 시 수치가 상승하는 것으로 알려져 있다(Gordon, 1968). 본 연구 결과에서 AST의 경우 고수온인 30℃에서는 타 실험구에 비해 유의하게 높게 나타났다. 일반적으로 어체의 생리상태가 좋지 않을수록 간 손상이 유발되며 활성이 높아져 혈중 농도가 증가하는데(Casilas and Ames, 1985; Rao et al., 1990), 이러한 경향은 ALT에도 동일하게 30℃에서 유의적으로 높은 수치를 나타내 AST와 ALT 모두 고수온에 따른 벤자리의 간 손상이 유도 될 것으로 판단된다.

TP는 중성지방이라 불리며 몸에 사용하고 남은 지방성분의 일종으로 혈액 중 에너지원의 운반이나 저장 및 몸을 유지하는데 중요한 역할을 하는 물질로, 외부

스트레스가 작용하게 되면 혈중의 TP가 높게 나타나는 것으로 알려져 있다 (Vutukuru, 2005). 1999년 수온변화에 따른 넙치의 생리적 반응 연구에서 TP는 일정한 변화 경향이 없었는데(Park et al., 1999), 본 실험 결과 대조군인 20℃와 비교했을 때, 15℃와 25℃에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았지만 고수온인 30℃에서는 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈다. 이러한 결과는 고수온이 벤자리 사육 환경에 스트레스 요인으로 작용하는 것으로 판단된다.

TRIG는 수온, 먹이, 생식 주기 및 성별 등에 의해 수치가 변화하는 것으로 보고되었으며(Lie et al., 1988), 혈중 지방으로 저장되어 있던 지방이 빠져나와 glucose로 변환되는 과정에서 혈중의 TRIG가 증가되는데 이는 다른 세포들에서 glucose를 요구하여 TRIG가 동원 되어 지방이 점점 빠진다. 일반적인 상태에서는 기하 상태가 유지되어야만 에너지 대사가 많아져 혈당량이 요구되는 양이 증가하여 혈중에서 TRIG의 양이 줄어든다. 본 실험에서는 모든 실험구에서 대조구에 비해 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 약간 감소하는 경향을 나타냈는데 이는 고수온으로 인한 생체 내 대사활성이 증가하여 혈중의 TRIG를 에너지원으로 활용함으로써 그 농도가 낮아지는 것으로 판단된다.

Glucose는 30℃에서 가장 높게 나타났으며 모든 실험구에서 유의적 차이는 나타나지 않았다. 일반적으로 glucose의 수치가 높으면 외부적 스트레스에 의한 간 손상으로 glucose의 수치도 높아지는데 (Robertson et al., 1987), 넙치와 쥐 놀래미, 연어류의 수온변화에 의한 스트레스 실험 결과에서 저수온보다 고수온에서 glucose의 수치가 모두 높게 측정되었으며(CHANG, Y. J., 2001), 수온상승에 따른 스트레스 영향으로 glucose가 높게 나타난다고 보고되었다(Park et al., 1999). 이와 같은 결과들은 본 연구 결과와 유사하게 고수온인 30℃에서 가장 높은 수치를 나타내 고수온이 에너지 소비 효율성을 떨어뜨려 스트레스로 작용할 것으로 판단된다.

혈중 이온농도 측정 결과 고수온인 30℃에서 칼슘수치가 높게 나온 것은 수온 상승으로 인한 생체대사활동이 증대되어 그로 인해 세포내 단백질 합성 등의 작용으로 인해 혈중 칼슘농도가 증가 된 것으로 추정된다. 이 외에도 고수온일 때 나트륨 칼륨 마그네슘이 증가한 것은 생체 내 대사활동이 증대되어 나타난 결과라 추정되지만 전체적인 이온 발란스가 깨짐으로써 항상성에 문제가 발생하였을

가능성이 보인다. 그러나 삼투압에서는 전체적으로 큰 유의적인 차이가 나타나지 않았고, 본 실험에서 사육기간 동안 폐사가 일어나지 않은 것과 혈중의 이온의 농도가 다소 상승했음에도 불구하고 전체적인 삼투압 농도가 일정하게 유지 된다는 것은 고수온 자체가 삼투압 조절능력을 파괴 할 정도의 강한 스트레스로 작용하는 것은 아니라는 것으로 판단된다. 그러나 칼슘 이온과 같은 이가 이온들은 생체 내에서 단백질 합성이 증가 되었을 때 혈중 칼슘농도가 증가되는 것으로 보고되어 지고 있기 때문에(Waring et al., 1996). 이러한 칼슘농도가 증가 된 것은 30℃에서 대사활동이 증대되어서 나타나는 결과로 판단되어 진다.

비특이적 면역활성 중 하나인 lysozyme은 세균 침입에 대한 초기방어역할을 수행하며, 성별, 수온, pH, 독성물질 노출, 감염 및 스트레스 정도에 따라 활성이 다양하게 나타난다(Saurabh and Sahoo, 2008). 어류에 있어 lysozyme은 무지개 송어(*O. mykiss*)와 나일 틸라피아(*O. niloticus*)에서 스트레스에 의존하는 것으로 보고되었으며(Caruso and Lazzard, 1999; Mock and Peters, 1990; Yildiz, 2006), 스트레스 관련 호르몬인 cortisol과 마찬가지로 스트레스를 받을 경우 활성이 증가하였다가 시간이 흐른 후 감소되는 것으로 보고되었다(Ma et al., 2013). 본 실험 결과에서 lysozyme 활성은 수온 상승에 따라 점차 감소하는 경향을 나타냈으며 이전 연구들의 결과와 유사하게 나타냈다.

PO는 일반적으로 혈장내의 anti-protease와 같은 $\alpha 1$ -antiprotease, $\alpha 2$ -antiprotease 및 $\alpha 2$ -macroglobulin에 의하여 활성화 된다고 하였으나 이러한 효소들은 일반적으로 세균이 침입하였을 때만 반응하는 효소들로서 PO activity를 위한 전구효소의 활성은 개체의 감염 및 면역자극에 의해서만 활성화 된다고 보고하였다(Magnadóttir et al., 2006). 본 실험 결과에서 PO 활성 결과 모든 실험구에서 대조구인 20℃보다 모두 높게 나타냈다. 일반적으로 PO 활성은 외부 스트레스가 작용 시 상승되는 경향을 나타내지만 그 스트레스의 정도가 높아지게 되면 다시 감소하는 것으로 보고되었다(Treverse et al., 2008). 본 연구에서 실험 구간에 따른 PO 활성이 대조구인 20℃에 비해 25℃나 저수온인 15℃에서 다소의 스트레스 작용으로 증가하였으나 이러한 스트레스 작용이 30℃ 고수온으로 증가함에 따라 PO 활성이 감소하여 면역성이 저감되는 것으로 판단된다.

V. 참고 문헌

Azaza, M. S., Dhraief, M. N., & Kraiem, M. M. (2008). Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. *Journal of thermal Biology*, 33(2), 98-105.

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.

Bell, G. R. (1968). Distribution of transaminases (aminotransferases) in the tissues of Pacific salmon (*Oncorhynchus*), with emphasis on the properties and diagnostic use of glutamic-oxalacetic transaminase. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 25(6), 1247-1268.

Brewer, P. G. (1997). Ocean chemistry of the fossil fuel CO₂ signal: The haline signal of “business as usual”. *Geophysical Research Letters*, 24(11), 1367-1369

Caruso D and Lazard J. 1999. Subordination stress in Nile tilapia and its effect on plasma lysozyme activity. *J Fish Biol* 55, 451-454.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.1999.tb00690.x>.

Casillas, E., Myers, M. S., RHODES, L. D., & McCain, B. B. (1985). Serum chemistry of diseased English sole, *Parophrys vetulus* Girard, from polluted areas of Puget Sound, Washington. *Journal of Fish Diseases*, 8(5), 437-449.

CHANG, Y. J., HUR, J. W., LIM, H. K., & LEE, J. K. (2001). Stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) and fat cod (*Hexagrammos otakii*) by the sudden drop and rise of water temperature. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(2), 91-97.

Change, C. (2007). IPCC fourth assessment report. The physical science basis, 2, 580-595.

Choi, Y. U., Park, H. S., & Oh, S. Y. (2011). Effects of stocking density and feeding frequency on the growth of the Pacific cod, *Gadus macrocephalus*. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44(1), 58-63

Costa, D. P., Oliveira Paes Leme, F., Takata, R., Costa, D. C., Souza e Silva, W., Melillo Filho, R., ... & Luz, R. K. (2016). Effects of temperature on growth, survival and physiological parameters in juveniles of *Lophiosilurus alexandri*, a carnivorous neotropical catfish. *Aquaculture research*, 47(6), 1706-1715.

Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., & Kleypas, J. A. (2009). Ocean acidification: the other CO₂ problem. *Marine Science*, 1.

Effect of water temperature on the embryonic development of slime flounder *Microstomus achne*. *Development & Reproduction*, 13(4), 265-270.

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.

Lie, Waagb, R., & Sandnes, K. (1988). Growth and chemical composition of adult Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed dry and silage-based diets. *Aquaculture*, 69(3), 343-353.

Logue, J.P.T. and Cossins, A.R.: Heat injury and resistance adaptation in fish. *J. Ther. Biol.*, 20:191-197, 1995.

Ma, Y., Liu, Z., Yang, Z., Li, M., Liu, J., & Song, J. (2013). Effects of dietary live yeast *Hanseniaspora opuntiae* C21 on the immune and disease resistance against *Vibrio splendidus* infection in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Fish & shellfish immunology*, 34(1), 66-73.

Maccarthy, I., Moksness, E., & Pavlov, D. A. (1998). The effects of temperature on growth rate and growth efficiency of juvenile common wolfish. *Aquacult Int*, 6, 207-218.

Magnadóttir, B., Gudmundsdóttir, B. K., Lange, S., Steinarsson, A., Oddgeirsson, M., Bowden, T., ... & Gudmundsdóttir, S. (2006). Immunostimulation of larvae and juveniles of cod, *Gadus morhua* L. *Journal of Fish Diseases*, 29(3), 147-155.

McDonald, D. G., & Wood, C. M. (1981). Branchial and renal acid and ion fluxes in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, at low environmental pH. *Journal of Experimental Biology*, 93(1), 101-118.

Min, H. S., & Kim, C. H. (2006). Interannual variability and long-term trend of coastal sea surface temperature in Korea. *Ocean and Polar Research*, 28(4), 415-423.

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.

Möck, A., & Peters, G. (1990). Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), stressed by handling, transport and water pollution. Journal of Fish Biology, 37(6), 873-885.

Molander, D. W., Wroblewski, F., & LaDue, J. S. (1955). Serum glutamic oxalacetic transaminase as an index of hepatocellular integrity. The Journal of laboratory and clinical medicine, 46(6), 831.

Mueter FJ and Litzow MA. 2008. Warming climate alters the demersal biogeography of a marginal ice sea. Ecol Appl 18, 309-320.

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.

Parker LMR, Ross M, O'Connor WA, Pörtner HO, Scanes E and Wright JM. 2013. Predicting the response of molluscs to the impact of ocean acidification. Biology 2, 651-692.

Pörtner, H. O. (2008). Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming: a physiologist's view. Marine Ecology Progress Series, 373, 203-218.

Pörtner, H. O., Langenbuch, M., & Michaelidis, B. (2005). Synergistic effects of temperature extremes, hypoxia, and increases in CO₂ on

marine animals: From Earth history to global change. Journal of Geophysical Research: Oceans, 110(C9).

Rao, P. (1990). Histopathological and biochemical changes in the liver of a fresh water fish exposed to heptachlor. Journal of Nature Conservation, 2(2), 133-137.

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.

Ryan, S.N.: The effect of chronic heat stress on cortisol levels in the Antarctic fish *Pagothenia borchgrevinki*. Experientia, 51: 768-774, 1995.

Saurabh, S., & Sahoo, P. K. (2008). Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. Aquaculture research, 39(3), 223-239.

Schreck, C.B.: Stress and rearing of salmonids. Aquaculture, 28: 241-240, 1982.

Seikai M, Tanangonan JB and Tanaka M. 1986. Temperature influence on larval growth and meta morphosis of the JapaW-nese flounder *Palalichthys olivaceus* in the laboratory. Bull Jap Soc Sci Fish 52, 977-982.

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.

Shamseldin, A., Clegg, J. S., Friedman, C. S., Cherr, G. N., & Pillai, M. (1997). Induced thermotolerance in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*.

Sun, L., & Chen, H. (2009). Effects of ration and temperature on growth, fecal production, nitrogenous excretion and energy budget of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 292(3-4), 197-206.

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.

Travers, M. A., Le Goïc, N., Huchette, S., Koken, M., & Paillard, C. (2008). Summer immune depression associated with increased susceptibility of the European abalone, *Haliotis tuberculata* to *Vibrio harveyi* infection. *Fish & shellfish immunology*, 25(6), 800-808.

Vutukuru, S.S.: Acute effects of hexavalent chromium on survival, oxygen consumption, hematological parameters and some biochemical profiles of the Indian major carp, *Labeo 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.

Wedemeyer, G. A., Barton, B. B., & McLeay, D. J. (1990). Stress and acclimation.

김이오, & 이상민. (2017). 고수온 (27-33℃) 에서 사육한 쏘가리 (*Siniperca scherzeri*) 치어의 성장 및 체조성 변화. *한국수산과학회지*, 50(6), 756-761.

김재우, 김하원, 허성희, & 광석남. (2011). 제주 신양리 연안 인공어초 주변해역에서 서식하는 어류의 종조성 및 계절변동. 韓國漁業技術學會誌, 47(2), 118-127.

VI. 감사의 글

“배는 항구에 있어야 안전하다 그러나 항구에 있으려고 만들어 진 것이 아니다. 항해를 할 때 가치를 발휘하는 배처럼 현실에 안주하지 말고 앞으로 나아갈 때 나의 가치는 더욱 커진다” 라는 문구를 항상 가슴속에 새겨두고 실천하기 위해 대학원 석사 과정을 선택 하였고, 3년 반이라는 시간이 지나서야 석사 과정을 마무리 지게 되었습니다. 지도교수님이신 여인규 교수님의 따뜻한 격려와 지도아래 석사 과정을 마칠 수 있었고, 학자로서 배움의 자세를 배울 수 있었습니다. 한단계 성장할 수 있도록 도와주셔서 진심으로 감사드립니다. 그리고 자신의 일보다 저의 일을 먼저 생각해주시고 실험에서부터 논문 작성에 이르기까지 도와주신 김기혁 형님 너무 감사드립니다. 또 정신없는 저에게 항상 먼저 연락해서 나이든 오빠 졸업시켜 주려고 앞길을 이끌어준 실험실의 안방마님 문혜나 너무 고마워. 지금은 실험실에 없지만 언제나 힘을 주었던 든든한 박천만, 기분좋은 에너지를 주는 엔돌핀 노운혜 너희들의 희생과 도움 너무 고마워. 실험실의 모든분들이 없었다면 석사과정을 마치지도 못했습니다. 다시한번 모두에게 너무나도 감사하다고 전하고 싶습니다. 대학원 동기이자 회사의 팀장님이신 박진희 석사님께도 감사하다고 전합니다. 항상 앞으로 전진하는 모습으로 배움에 있어서 나이는 숫자에 불과하다는 모습을 몸소 보여주셔서 많이 배웠습니다 감사합니다 팀장님. 나의 멘토이자 이세상에 내가 있게 해준 사랑하는 아버지, 어머니 감사합니다. 아버지의 가르침과 어머니의 사랑으로 이렇게 감사의 글을 쓸 수 있는 자리에 설 수 있었습니다. 사랑하고 존경하고 감사합니다. 멋진 아들이 되도록 항상 노력할게요.

한 가정의 가장으로 아버지로 남편으로 지낼 수 있게 해준 사랑하는 아내 은혜야 회사 일하고 논문 쓴다고 스트레스 받은 나에게 한번도 부정적인 말과 행동을 보여주지도 않고 이해해줘서 너무 고마워 덕분에 우리 사랑하는 딸 지유와 지유 동생한테 당당하고 멋진 아버지가 될 수 있는거 같아 다시한번 고맙고 우리 가족 정말 사랑해.

이번 석사과정을 마치면서 저에게 도움을 주신 모든 분들께 다시한번 감사하다고 전해드리고 싶습니다.