

탁도 변화가 붕어 조직의 항산화효소 활성에 미치는 영향

신명자 · 이 청 · 이종은 · 서울원*

안동대학교 자연과학대 생명과학과

Effect of Turbidity Changes on Antioxidant Enzyme Activity of *Carassius auratus* Tissues

Myung Ja Shin, Chung Lee, Jong Eun Lee and Eul Won Seo*

Department of Biological Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Abstract - Present study aims to study antioxidant enzyme activity due to turbidity change in various tissues of *Carassius auratus*. As for the changes of antioxidant enzyme activity in tissues of *C. auratus* pursuant to the raising period under 50, 100, and 150 NTU with turbid water levels, there was no great difference between 50 NTU and 100 NTU compared to a control (0 NTU), however, it demonstrated a relatively noticeable difference at 150 NTU high turbid water level. When considering the antioxidant capacity in tissues of *C. auratus* in terms of DPPH free radical scavenging activity, there was a high activity in gill and liver tissues, therefore, it is thought that there appears a non-enzymatic antioxidant reaction when *C. auratus* is reared under the condition of highly turbid water. As for the enzymatic antioxidant reaction of antioxidant enzyme activity got increased as turbid water level went higher in order of 50, 100, 150 NTU, and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione-s-transferase (GST), increased in all tissues except for an integument, up to 20th day when it was started to be reared, and they showed a gradual decrease as time passed by. However, since the activity of glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (GPX) is very low in almost all tissues, it is thought that the role of those enzymes would be quite ignorable in the course of antioxidant process.

Key words : antioxidant enzyme, turbid water, *Carassius auratus*

서 론

수중에 부유물질의 양이 증가하게 되면 빛은 수중 바닥까지 투과하지 못하게 되어 수생물의 광합성 작용은 제한을 받게 되며, 수중은 수온과 용존산소의 성층화를 일으키게 된다. 높은 탁도로 인하여 수환경이 탁수의 상

태로 전환되면 투명도 저하, 생산성 감소, 외부 기원성 유기물의 증가, 수중 영양염의 공급 및 지질의 토성 변화가 초래된다. 이러한 변화 중 특히 투명도가 저하되면 서식처 및 먹이섭취 교란 등이 일어나게 되어 많은 어종과 수중 생물은 생존을 위협받거나 심한 경우에는 생존이 불가능한 상태에 까지 이르게 된다.

탁수의 정도가 심화되면 어류는 심한 스트레스를 받게 되어 여러 산화성 물질 중 다량의 활성산소를 발생하게 된다 (Chance *et al.* 1979). 이러한 활성산소는 생체

*Corresponding author: Eul Won Seo,
Tel. 054-820-5462, E-mail. ewseo@andong.ac.kr

내에서 다른 물질과 결합하려는 화학적 친화력이 강해서 세포나 기관의 막을 공격하여 세포의 기능을 손상시켜 생존에 커다란 위협이 된다. 어류는 이러한 활성산소를 여러 종류의 비효소성 항산화제와 효소성인 항산화효소의 작용을 통해 제거함으로써 세포의 기능손상을 막게 된다(Chance *et al.* 1979; Wendel and Feuerstein 1981).

어류의 항산화효소 중 Superoxide dismutase (SOD)의 활성은 높은 수온에 장기간 노출되면 활성이 증가하며 (Parihar *et al.* 1997), 중금속 이온의 만성노출 시에는 시간이 지남에 따라 항산화효소의 활성이 감소한다고 알려져 있다(Chen *et al.* 2000; Zikic *et al.* 2001). 어류의 항산화효소 활성은 생체내 스트레스 반응과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있으나 탁도와 어류 조직에 따른 항산화효소 활성에 관한 연구는 매우 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 탁도 변화가 붕어의 조직내 여러 항산화효소 활성에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시료추출

공시어는 경북 의성군 안계면에 위치한 약수 양어장에서 사육된 1년생 암컷으로 길이 약 12 ± 1.5 cm에 무게 39 ± 2 g인 붕어(Crucian carp, *Carassius auratus*)를 실험실내 수조에서 사육하였다. 탁도에 따른 변화는 안동시 임하호 주변에서 채취한 점토질로 탁도를 0(대조구), 50, 100, 150 NTU로 조정하여 사용하였다. 사육기간은 5일, 10, 20, 30일 및 80일 간격으로 설정하였으며, 각 실험구당 50마리씩 사용하였다.

붕어는 각 사육기간마다 6마리씩 취하여 아가미, 간, 신장, 표피 및 장 조직을 Ringer 용액 하에서 적출한 후 Homogenation buffer (5 mM tris, 38 mM glycine, pH 8.4)에서 완전히 균질화 시킨 후 시료는 13,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리하여 지질층을 제외한 상등액만을 모아 -70°C 에 보관하였다.

2. DPPH (1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)

유리 라디칼 소거 활성도 측정

DPPH의 소거 활성 측정은 Yoshida 등(1989)의 방법에 의하여 cuvette내 농도별 test sample과 300 μM DPPH 용액 (흡광도가 1.0이 되도록 용액을 희석)을 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 515 nm에서 대조구와 시료구와의 흡광도 차이를 측정하였다. 시료처리에 의한 억제율은 DMSO가 처리된 대조구와 비교하여 계산하였고, IC₅₀ 값은 50% DPPH 유리 라디칼을 제어시키는 시료

농도로 계산하였다.

3. 항산화효소의 활성 측정

1) Superoxide dismutase (SOD)

Superoxide dismutase의 활성은 McCord와 Fridovich (1969)의 방법에 따라 측정하였다. 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8), 0.1 M cytochrome C, 50 mM xanthine, 0.1 mM EDTA 및 효소액이 포함된 용액을 25°C에서 예치한 다음 xanthine oxidase를 첨가하여 반응을 개시하였다. 효소의 활성은 550 nm에서 10초 단위로 150초간 흡광도를 측정하였으며, xanthine oxidase 첨가량은 효소액을 함유하지 않은 반응액의 흡광도 흡수가 분당 0.025가 되도록 조절하였다. 효소의 활성은 cytochrome C의 환원 속도를 50% 억제하는 양을 1 unit로 책정하여 unit/mg protein/min으로 나타내었다.

2) Catalase (CAT)

Catalase의 활성은 Aebi(1984)의 방법에 따라 측정하였다. 50 mM phosphate buffer (pH 7.0) 2 mL와 시료액 20 μL 를 취하고 기질로 10 mM H₂O₂ 용액 1 mL를 가하여 잘 혼합한 후 240 nm에서 흡광도의 변화를 2분간 측정하였다. 대조실험으로는 기질인 H₂O₂용액 대신에 50 mM phosphate buffer (pH 7.0)을 가하고 위와 동일한 방법으로 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소의 활성은 1분 동안에 1 μmol 의 H₂O₂를 분해하는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

3) Glutathione peroxidase (GPX)

Glutathione peroxidase의 활성은 Flohe 등(1984)의 방법에 따라 측정하였다. 1 mM EDTA가 함유된 100 mM phosphate buffer (pH 7.6)에 0.25 mM GSH, 0.12 mM NADPH가 포함된 반응액을 제조하였으며, 이 반응액에 효소 시료액을 혼합한 후 37°C에서 5분간 방치한 다음 4 mM cumene hydroperoxide를 60 μL 를 가하여 340 nm에서 1분간 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소의 활성은 1분 동안에 1 μmol 의 NADPH를 NADP로 산화하는 효소량을 1 unit로 하여 표시하였다.

4) Glutathione-s-transferase (GST)

Glutathione-s-transferase의 활성은 Habig와 Jakoby (1981)의 방법을 이용하여 측정하였다. 1 mM GSH와 1 mM chlorodinitrobenzene (CDNB)이 함유된 100 mM phosphate buffer (pH 7.0)에 효소시료를 넣은 후 340 nm에서 1분간 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소의 활성은 1분 동안에 1 nM GSH를 소비하는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

5) Glutathione reductase (GR)

Glutathione reductase의 활성은 Glatzle 등 (1974)의 방법에 따라 측정하였다. 1 mM oxidized glutathione (GSSG), 50 μM NADPH가 함유된 100 mM phosphate buffer (pH 7.5)에 효소 시료액을 넣은 후 340 nm에서 3분간 변화하는 흡광도를 측정했다. 효소의 활성은 1분 동안에 1 nM의 NADPH가 산화되는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

4. 통계처리

각 실험에서 얻어진 자료에 대하여 $P < 0.05$ 를 유의차 가 있는 것으로 간주하고 통계 프로그램 패키지 (SPSS Inc., ver. 12.0 K)를 이용하였다. 실험 자료에 대한 비교는 ANOVA test를 실시하였고 사후검정은 Duncan test로 각 실험 자료 사이에 유의적인 차이를 조사하였다. 결과는 표준값±표준편차로 나타냈다.

결 과

탁도 변화에 따른 붕어 조직의 항산화효소 활성을 조사하기 위하여 대조구 수질의 탁도는 0 NTU, 실험구의 탁도는 50, 100, 150 NTU로 조절하였다. 대조구의 수질은 Table 1에서 보는 바와 같이 수질환경 기준의 표준값으로 매우 양호한 상태를 보이거나 사육 시 큰 영향을 줄 수 있는 수온이 적정 수온보다 조금 낮은 상태를 보이고 있다. 수조내 탁도를 50, 100, 150 NTU로 조절하여 실험한 결과 탁도 50과 100 NTU에서 사육한 붕어 조직의 항산화 효소 활성은 대조구에 비해 급격한 변화를 나타내지 않았다 (data not shown). 반면 150 NTU에서 사육했을 경우 항산화 효소의 활성이 사육기간에 따라 비교적 두드러진 차이를 나타냈기 때문에 고탁도인 150 NTU에서 조사한 내용을 중심으로 항산화 효소 활성의 변화를 조사하였다.

1. DPPH 유리 라디칼 소거 활성 측정

붕어를 150 NTU의 고탁도에 장기간 사육하여 DPPH

Table 1. Water quality of diluted water in this experiment

Parameters	Concentration
Water temperature (°C)	10~12
pH	7.44~7.52
Oxidation Reduction Potential (mV)	-40~-41
Dissolved oxygen (mL ⁻¹)	10~12
Conductivity (μS cm ⁻¹)	155~158
Alkalinity (mgCaCO ₃ L ⁻¹)	88~95
Hardness (mgCaCO ₃ L ⁻¹)	80~85

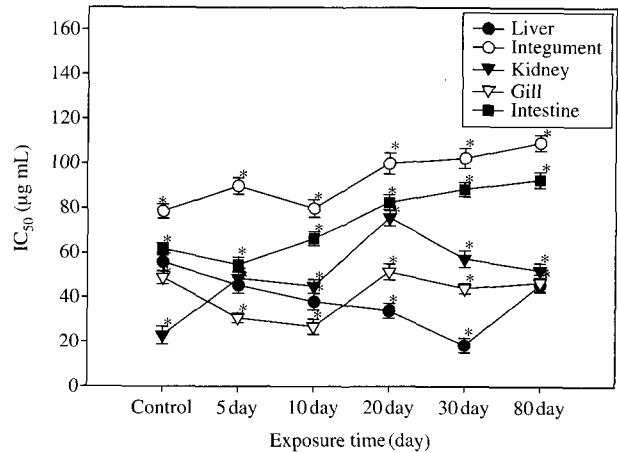


Fig. 1. DPPH free radical scavenging activity for the extracts obtained from *Carassius auratus* gill, liver, kidney, integument and intestine during 80 days exposed at 150 NTU turbid water. The activity of DPPH was shown only in the liver, gill, and kidney tissues, and it was shown for very low activity in integument and intestine. The bars show the mean standard deviation (n=6). * $P < 0.05$ as compared to tissues.

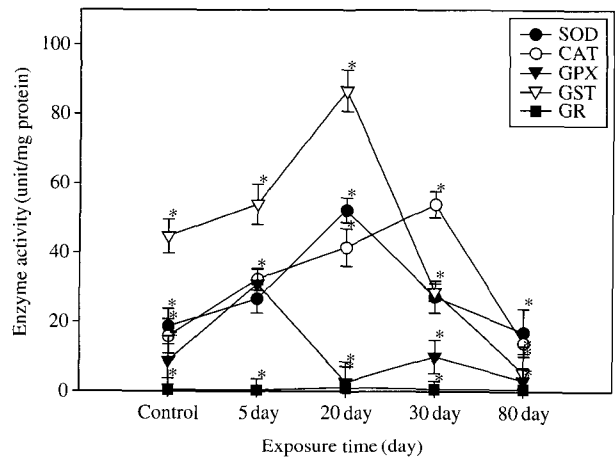


Fig. 2. Various antioxidant enzyme activities of *C. auratus* gill during 80 days exposed at 150 NTU turbid water. The gill showed the highest activity of GST and the activity of SOD and GST was shown high activity on the 20th day and then decreased, and the activity of CAT and GPX was shown high activity on the 5th day. The bars show the mean standard deviation (n=6). * $P < 0.05$ as compared to antioxidant enzyme.

소거 활성을 통해 각 조직의 항산화능을 조사해 보면 DPPH 소거 활성의 경우 모든 조직에서 유의적인 차이가 조사되었다 (Fig. 1, $P < 0.05$). 아가미와 간에서는 항산화능이 높게 나타나는 정색반응을 보였으나 신장, 표피 및 장에서는 항산화능이 거의 없는 것으로 나타났다. 아가미의 경우 사육 초기에 항산화능이 높게 나타난 반면

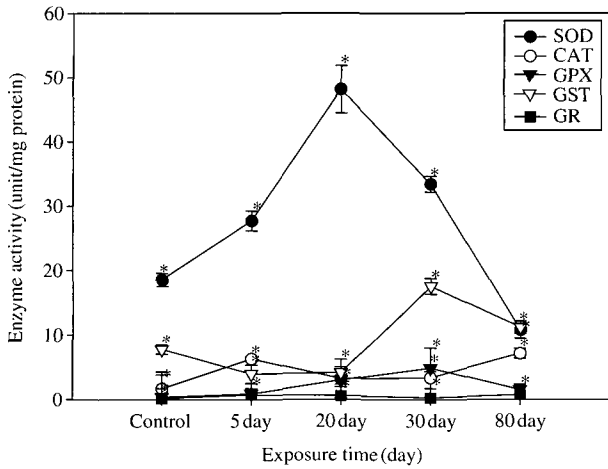


Fig. 3. Various antioxidant enzyme activities of *C. auratus* liver during 80 days exposed at 150 NTU turbid water. In liver, the activity of SOD was shown to be highest, and the activities of the antioxidant enzyme increased as time passed with the high activity on the 20th day and the 30th day, while the activity of CAT was shown opposite direction in increase on the 5th day, but then declined. The bars show the mean standard deviation (n=6). *P<0.05 as compared to antioxidant enzyme.

사육 후기로 가면 대조구와 비슷한 항산화능을 보여주고 있다. 간에서는 고탁도에 사육할 때 지속적인 항산화능을 보여주고 있으나 신장, 포피, 장에서는 고탁도에 사육시 오히려 항산화능이 떨어지는 경향을 보여주고 있다.

2. 조직에 따른 항산화효소 활성

붕어를 150 NTU의 고탁도에 장기간 사육하여 조직에 따른 항산화효소 활성을 조사해 보면 각 조직에 따른 항산화효소의 활성 비교에서 유의적인 차이가 있는 것으로 조사되었다(Figs. 2, 3, 4, 5, 6, P<0.05).

150 NTU의 고탁도에서 장기간 붕어를 사육하여 붕어의 여러 조직 내 항산화효소 활성을 조사하였다. 우선 아가미에서 항산화효소의 활성을 조사해 보면 수질 상태가 양호한 대조구에 비해 여러 항산화효소의 활성은 고탁도의 수질에서 사육함에 따라 활성이 점차 증가하는 경향을 보여주고 있다(Fig. 2, P<0.05). SOD와 CAT의 활성은 사육 후 20일까지 증가하나 사육 후기인 80일에는 대조구에 비해서도 낮은 활성으로 감소하고 있다. 아가미에서는 GST의 활성이 비교적 높게 나타났으나 사육 후 20일 이후에는 오히려 대조구에 비해서도 활성이 낮게 나타났다. 일반적으로 장기간 사육시 항산화효소의 활성이 감소하는 경향을 보이고 있다.

간에서는 SOD의 활성이 가장 두드러져서 대조구에 비해 고탁도에 사육 후 20일까지 이의 활성이 증가되고

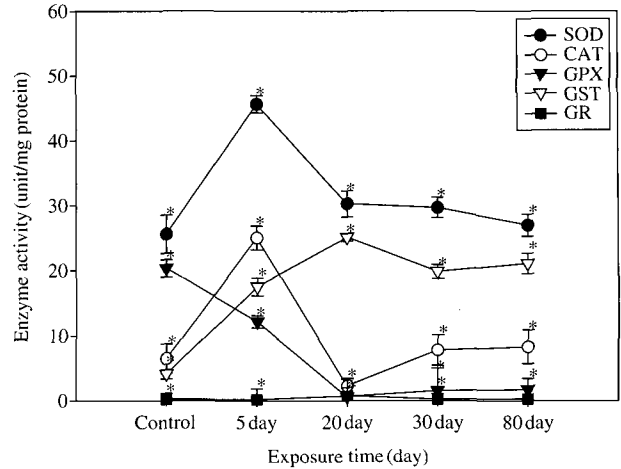


Fig. 4. Various antioxidant enzyme activities of *C. auratus* kidney during 80 days exposed at 150 NTU turbid water. The kidney had the highest activity of SOD and GST, and the activity of GPX, CAT and SOD had the high activity on the 5th day while the activity of the GST shown the high activity on the 20th day. The bars show the mean standard deviation (n=6). *P<0.05 as compared to antioxidant enzyme.

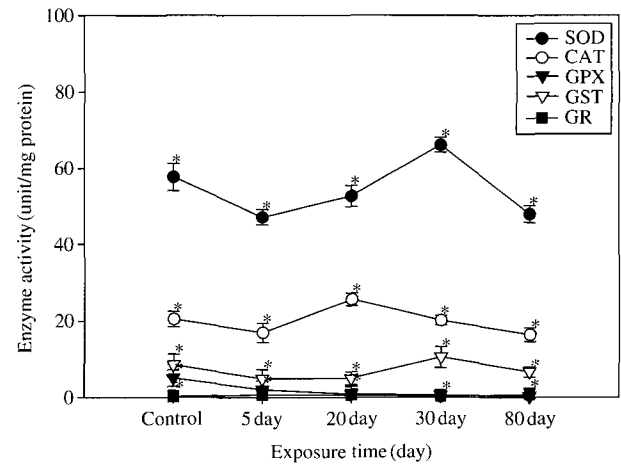


Fig. 5. Various antioxidant enzyme activities of *C. auratus* integument during 80 days exposed at 150 NTU turbid water. The integument had the highest activity of SOD and GST, and showed similar result in having the highest activity on the 30th day. Activity of CAT, GPX and GR showed certain activity in general. The bars show the mean standard deviation (n=6). *P<0.05 as compared to antioxidant enzyme.

있다(Fig. 3, P<0.05). 그러나 그 이후에는 점차 감소하여 사육 후 80일이 되면 대조구보다 낮은 활성을 보이고 있다. 나머지 항산화효소의 활성은 대조구에 비해 커다란 활성의 변화는 거의 나타내지 않았다.

신장에서는 SOD, CAT 및 GST의 활성 변화가 두드러져서 SOD와 CAT의 활성은 대조구에 비해 사육 후 5

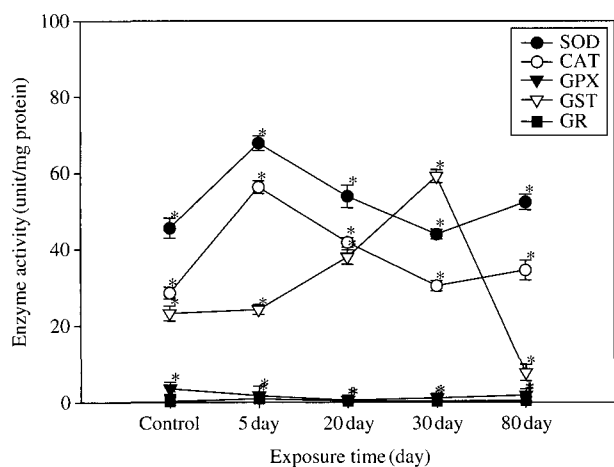


Fig. 6. Various antioxidant enzyme activities of *C. auratus* intestine during 80 days exposed at 150 NTU turbid water. In the intestine, the activity of SOD and GST showed high, and the activity of SOD and CAT showed high activity on the 5th day and showed similar result in decrease. In the meantime, activity of GST showed low activity on the 5th day and then increase, showing the contrasting result. The bars show the mean standard deviation ($n=6$). * $P < 0.05$ as compared to antioxidant enzyme.

일째에 이의 활성이 급격히 증가하는 양상을 보이거나 그 이후로는 대조구와 유사한 활성을 보이고 있다 (Fig. 4, $P < 0.05$). 대신에 GST는 사육 후 20일까지 계속 활성이 증가되며 그 이후 활성이 감소되나 대조구에 비해서는 훨씬 높은 활성을 유지하고 있다. 이외에 GPX의 활성은 대조구에 비해 오히려 이의 활성이 감소하고 있으며 GR의 활성은 거의 나타나지 않았다.

표피 조직의 경우 항산화 효소 활성은 전반적으로 대조구에 비해 약간의 변화는 있지만 거의 일정한 수준을 유지하는 양상을 보여주고 있다 (Fig. 5, $P < 0.05$).

장 조직에서 항산화효소의 활성을 조사해보면 SOD와 CAT의 활성은 대조구에 비해 사육 후 5일에 활성이 증가하나 그 이후 감소하지만 사육이 장기화 된 80일에 다시 증가하는 양상을 보이고 있다. 이에 비해 GST의 활성은 사육 후 30일까지 활성이 증가되지만 사육 80일에는 오히려 대조구보다도 활성이 낮게 나타났다 (Fig. 6, $P < 0.05$).

고찰

어류는 유해 물질이나 약물 등 환경적 스트레스를 받게 되면 체내에서 다량의 활성산소를 생성하게 되고 이에 의해 조직속에 들어 있는 단백질, 핵산 및 막에 치명적인 손상을 받게 된다 (Moody and Hassan 1982; Godberg

and Stern 1997). 그러나 활성산소에 의한 세포 손상은 여러 항산화제 뿐만 아니라 Superoxide dismutase (SOD)나 Catalase (CAT) 등과 같은 항산화효소의 작용에 의해서도 보호된다. 일반적으로 항산화효소는 어류의 종류, 조직 및 계절에 따라 항산화효소 활성이 변화하는 것으로 알려져 있다 (Aksnes and Njaa 1981; Gabryelak *et al.* 1983). 그러나 여러 환경적인 요인 중 탁도에 따른 어류의 항산화 작용에 관한 보고는 매우 미흡한 형편이다.

생체 조직내 항산화 작용은 항산화제와 항산화효소의 유기적인 작용을 통해 이루어지고 있다. 붕어 조직내 비효소적 항산화능을 DPPH 소거 활성도를 통해 조사해보면 아가미, 간 조직에서는 높은 활성을 보인 반면 신장, 표피와 장에서는 아주 낮은 활성을 나타내어 조직에 따른 항산화능의 차이가 크게 나타났다 (Fig. 1). 이러한 결과로 보아 붕어는 고탁도의 사육 조건에서 장기간 사육될 때 비효소적 항산화작용은 주로 아가미와 간에서 일어나는 것으로 생각된다.

생체내에서 산화-환원 반응을 통해 형성되는 활성산소는 반응성이 매우 큰 산화물 라디칼로써 자발적인 과정에 의해서 일부 분해 되거나, 비효소적 반응을 통해 H_2O_2 로 전환된다. 그러나 SOD와 CAT 등과 같은 항산화효소는 활성산소를 보다 안정된 물질로 환원시키는데, 이중 SOD는 superoxide radical (O_2^-)을 H_2O_2 와 O_2 로 전환시키며, CAT는 전환된 H_2O_2 를 O_2 와 H_2O 로 분해함으로써 생체에 유해한 라디칼을 효소적으로 보다 효율적으로 제거하게 된다 (Forman and Fridovich 1973). 본 연구에서도 각 조직에서 보다 효율적으로 항산화 작용을 하는 항산화효소의 활성을 조사해 보면 SOD와 CAT의 활성이 가장 두드러지게 나타났으며 일부 조직에서는 GST의 활성이 높게 나타났다. 즉 아가미, 간, 신장 및 장에서는 고탁도에서 사육했을 때 사육초기에는 SOD와 CAT의 활성이 높게 나타났으나 장기간 사육했을 경우에는 오히려 수질이 양호한 대조구의 효소 활성보다 감소하는 경향을 보이고 있다. 그러나 표피조직에서는 항산화효소의 활성 변화가 거의 없었으며 여러 효소 중 GR과 GPX의 효소 활성 변화도 거의 없게 나타났다. 즉 붕어는 고탁도라는 환경적 스트레스에 대해 환경변화 초기에는 SOD나 CAT와 같은 항산화효소에 의한 적극적인 항산화작용을 하지만 장시간 노출이 되면 어느 정도 환경적 요인에 적응해 가는 경향을 보여주고 있다.

어류의 체조직 중 아가미는 가장 섬세하고 미묘하게 적응된 조직학적 구조를 갖고 있을 뿐 아니라 물에 직접 노출되어 있기 때문에 각종 유해인자의 침입 또는 이들에 의한 손상을 쉽게 받을 수 있는 곳이다 (허 1993). 본 연구에서도 아가미에서는 고탁도에서 사육 초기에 SOD

와 CAT의 활성이 급격히 증가하고 있는데 이는 고탁도의 환경적 변화에 최우선적으로 접하기 때문에 이에 대처하기 위한 수단으로서 효소적인 활성이 증가하는 것으로 사료된다. 또한 사육 초기 장에서도 SOD와 CAT의 활성이 증가되지만 그 이후 감소되나 장기간 사육하면 다시 이들 효소의 활성도 증가하였는데 이는 고탁도의 점토질 성분이 붕어의 소화관 점막에 영향을 미친 것으로 생각된다. 어류의 소화관내 배상세포는 환경적 요인으로 인한 화학적 손상과 각종 소화 효소의 침해로부터 소화관 점막을 보호하기 위해 점액성 물질의 분비를 촉진하기도 한다(Allen *et al.* 1986).

일반적으로 어류는 수온 상승과 함께 코티졸 및 항산화 효소 활성이 상승한다고 알려져 있으며(Parihar *et al.* 1997) 국내에서는 수온변화 스트레스에 관한 연구로 적정수온 이상의 과도한 수온 변화보다는 오히려 적은 수온에서 생체내의 방어기작의 작용능력과 회복력이 낮아져 지속적인 스트레스로 작용한다고 보고되어 있다(양 2004). 본 연구에서도 50, 100, 150 NTU로 탁도가 높아짐에 따라서 항산화효소의 활성이 증가하였으며 SOD, CAT 및 GST의 활성은 표피를 제외한 모든 조직에서 사육 후 20일까지는 증가하였으며 그 이후 사육 후기로 갈수록 감소하는 경향을 나타냈다. 그러나 GR과 GPX의 활성은 거의 모든 조직에서 활성도가 매우 낮기 때문에 어류의 항산화과정에서 이들 효소의 역할은 매우 미미할 것으로 생각된다. 이는 고탁수에서 미세 입자가 어류의 산소 교환에 직접적인 영향을 줌으로써 호흡과 관련하여 체내 다른 조직에도 영향을 주게 되어 탁도가 높고 시간이 지날수록 큰 변화를 나타낸 것으로 생각된다. 또한 어류는 아가미를 통해 수분과 이온이 체내로 유입되어 소화관벽과 신장을 거치게 됨으로 아가미, 소화관벽 및 신장이 외부로부터 유입된 물질을 조절하는 기능을 한다. 그러므로 탁수에 포함된 점토성 물질의 유입을 조절하기 위해 아가미, 신장 및 장 조직에서 항산화효소의 활성이 증가하는 생리적 변화가 사육초기에 일어난 것으로 생각된다.

적 요

본 연구에서는 붕어를 이용하여 탁도 변화에 따른 여러 조직의 항산화효소 활성을 조사하였다. 탁도 50, 100, 150 NTU에서 사육기간에 따른 붕어 조직의 항산화효소 활성의 변화는 50과 100 NTU에서는 대조구에 비해 큰 변화가 없었으며, 고탁도인 150 NTU에서 비교적 두드러진 차이를 나타냈다. 붕어 조직의 항산화능을 DPPH 소

거 활성도에서 보면 아가미, 간 조직에서 높은 활성을 보여 고탁도의 사육 조건에서 장기간 사육될 때 비효소적 항산화작용이 일어나는 것으로 생각된다. 효소적 항산화작용은 50, 100, 150 NTU로 탁도가 높아짐에 따라 항산화효소의 활성이 증가하였으며 SOD, CAT 및 GST의 활성은 표피를 제외한 모든 조직에서 사육 후 20일까지는 증가한 후 사육 후기로 갈수록 감소하는 경향을 나타냈다. 그러나 GR과 GPX의 활성은 거의 모든 조직에서 활성이 매우 낮으므로 어류의 항산화과정에서 이들 효소의 역할은 매우 적을 것으로 생각된다.

사 사

이 논문은 2004학년도 안동대학교 특별학술연구지원 사업에 의하여 연구되었습니다.

참 고 문 헌

- 양정환, 여인규. 2004. 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)에서의 급격한 수온변화 스트레스에 관한 생리학적 연구, Korean J. Ichthyol. 16:19-26.
- 허민도, 정현도. 1993. 어류의 아가미 조직학적 구조와 병변, J. Fish Pathol., 6:65-70.
- Aebi H. 1984. Catalase *in vitro*. In Packer (ed): Methods in Enzymology. New York, Academic Press. 105:121-126.
- Aksnes A and LR Njaa. 1981. Catalase, Glutathione peroxidase and superoxide dismutase in different fish species. Comp. Biochem. Physiol. 69B:893-896.
- Allen A, DA Hutton, AJ Leonard, JP Prson and LA Sellers. 1986. The role of mucus in the protection of the gastroduodenal mucosa. Scand J. Gastroenterol. 21(suppl. 125):71-77.
- Chance B, H Siec and A Boveris. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. Physiol. Rev. 59:527-605.
- Chen Y, XD Cao, Y Lu and XR Wang. 2000. Effects of rare earth metal ions and their EDTA complexes on antioxidant enzymes of fish liver. Environ. Contam. Toxicol. 65:357-365.
- Flohe L, A Wolfgang and WA Gunzler. 1984. Assay of glutathione peroxidase, pp 105-114. Methods in enzymatic analysis, Packer, L. ed. New York, Academic Press Inc.
- Forman HJ and I Fridovich. 1973. Superoxide dismutase: A comparison of rate constant. Arch. Biochem. Biophys. 158:396.
- Gabryelak T, M Piatrowska, W Leyko and G Peres. 1983. Seasonal variation in the activities of peroxide metabolism

- enzymes in erythrocytes of freshwater fish species. *Comp. Biochem. Physiol.* 75C:383-385.
- Glatzle D, JP Vuilleumier, F Weber and K Decker. 1974. Glutathione reductase test with whole blood, a convenient procedure for the assessment of the riboflavin status in humans. *Experientia* 30:665-668.
- Goldberg B and A Stern. 1997. The role of the superoxide anion as a toxic species in the erythrocyte. *Arch. Biochem. Biophys.* 178:218-225.
- Habig WH and WB Jakoby. 1981. Glutathione S-transferase in rat and human. *Meth. Enzymol.* 77:218-231.
- McCord JM and I Fridovich. 1969. Superoxide dismutase an enzymic function ferythrocuprotein (Hemocuprotein). *J. Biol. Chem.* 244:6049-6055.
- Moody CS and HM Hassan. 1982. Mutagenicity of oxygen free radicals. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79:2855-2859.
- Parihar MS, T Javeri, T Hemnani, AK Dubey and P Prakash. 1997. Responses of superoxide dismutase, glutathion peroxidase and reduced glutathion antioxidant defenses in gills of the freshwater catfish (*heteropneustes fossilis*) to short-term elevated temperature. *J. Therm. Biol.* 22:151-156.
- Yoshida T, K Mori, T Hatano, T Okumura, I Uehara, K Komagoe, Y Fujita and T Okuda. 1989. Studies on inhibition mechansim of autoxidation by tahanins and flovonoids. V. Radicalcavenging effects of tannins and related polyphenols on 1, 1-dipheny-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharmaceut. Bull.* 37:1919-1921.
- Wendel A and S Feuerstein. 1981. Drug-induced lipid peroxidation in mice-1. Modulation by monooxygenase activity, glutathione and selenium status. *Biochem. Pharmacol.* 30:2513-2520.
- Zikic RV, AS Stajin, SZ Pavlovic, BI Ogenjanovic and ZS Saicic. 2001. Activities of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes and plasma transaminases of goldfish (*Carassius auratus gibelio* Bloch.) exposed to cadmium. *Physiol. Res.* 50:105-111.

Manuscript Received: November 8, 2005

Revision Accepted: February 11, 2006

Responsible Editorial Member: Myung Chan Gye
(Hanyang Univ.)