

그물작업에 의한 은연어의 스트레스 반응

전중균 · 김병기* · 박용주* · 명정구** · 김종만**

강릉대학교 생명과학대학 해양생명공학부, *강원도립대학 수산개발학과, **한국해양연구소 해양생물자원연구센터

Changes of serum cortisol concentration and stress responses in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) to netting

Joong-Kyun JEON, Pyong-Kih KIM*, Yong-Joo PARK*, Jung-Goo MYOUNG** and Jong-Man KIM**

Fac. of Marine Biosci. & Technol., Kangnung Nat. Univ., Kangnung, 210-702, Korea

* Dept. of Fish. Develop., Kangwon Provincial Univ., Kangnung, 210-800, Korea

**Marine Living Resour. Res. & Develop. Center, KORDI, Ansan, 425-600, Korea

The production of cultured coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in Korea has being increased year after year. Smolt being reared in freshwater suffer transferring into seawater and are farmed in cages for fattening. This handling processes including transportation, confinement into cages are unavoidable stress to fish in salmon farming and often end up to mass mortality. This study aimed to investigate the impact of handling process on the stress responses of coho salmon. The indicator of stress was measured by cortisol to be a first response, and for the second response test, glucose, triglyceride, cholesterol, lactate and electrolyte of K⁺, Na⁺, Cl⁻ in serum and the activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) were analyzed. As a result, the concentration of cortisol, glucose as well as LDH activity were significantly increased, whereas others showed no difference comparing with control group. It obviously demonstrated that handling process made fish stressful.

Key words: Coho salmon, Serum, Stress, Cortisol, Netting

서 론

일반 양식장에서 일상 이루어지는 그물작업이나 운반 등의 작업은 어류에게 스트레스로 작용하며 (Wardle, 1981), 이로 말미암아 질병감염률의 증가, 항상성 (homeostasis) 유지능력의 저하, 다른 스트레스에 대해 저항 능력의 감소 등과 같은 부작용이 일어나기도 한다 (Robertson et al., 1988).

어류의 스트레스에 대한 생리적 반응은 고등동물과 거의 비슷하며 (Selye, 1973; Schreck, 1981), 스트레스의 정도 (강도와 지속 시간)에 따라 혈액과 조직에서의 생화학적 양태가 달라진다고 알려져 있다. 즉, 어류가 스트레스를 받으면 1차적으로는 신경계와 내분비계가 자극을 받아 코티졸 (cortisol)과 카테콜아민 (catecholamine)의 과다분비를 일으키고 이로 인해 2차적으로는 삼투압 조절이나 탄수화물 대사의 변화, 순환혈액세포의 population의 변화 등이 일어나며, 3차적으로는 성장을 감소나 질병 감염률 증가와 같은 현상으로 이어진다고 하는데, 이런 현상은 보통 동시다발적으로 일어난다 (Mazeaud et al., 1977; Schreck, 1981; Smith, 1982).

최근 우리 나라에서도 어류의 소비량이 날로 증가하는 데 힘입어 어류 양식이 매우 활발하게 이루어지고 있다. 더욱이 횡감으로서의 이용이 급증하고 있어 살아있는 상태로 생산지에서 소비지로 운송할 필요가 있다. 따라서 이를 위해 실시하는 생산지에서의 그물작업을 비롯하여 운송작업은 어류에게 상당한 스트레스 (stressor)로 작용하여 이로 말미암아 소비지에 도착하기 전후로 폐사하는 경우가 있어 관련 업계에 적지않은 손실을 입히고 있다. 따라서 이를 절감할 수 있는 방법을 모색할 필요가 있지만 국내에서는 어류의 스트레스에 관한 연구가 미진한 실정이다. 본 연구에서는 최근 우리 나라에서 양식에 성공하여 고급 어종으로 관심을

모으고 있는 은연어 (*Oncorhynchus kisutch*)를 대상으로 그물작업 중에 어느 정도 스트레스를 받는지 조사하였다.

재료 및 방법

실험어류 : 미국으로부터 수입한 알을 강원도 원주시에 위치한 치악수산의 부화조에서 부화시킨 뒤 콘크리트 수조 (4×36×0.6 m)에서 약 10개월간 사육한 은연어 (평균 체중 150 g)를 사용하였다.

그물작업 : 하이젝스망으로 제작한 어류몰이 기구를 사용하여 원래의 사육공간 (수면적 144 m², 수량 약 86 m³, 사육밀도 18.6 kg/m³)에서 수조의 주수구쪽으로 어류를 몰면서 좁힌 다음 (수면적 30 m², 밀도 88.9 kg/m³) 그물작업을 실시하였으며, 작업시간은 2시간이 소요되었다. 이 때, 그물작업에 따른 스트레스 반응을 조사하기 위하여 작업 개시시 (n=10)와 종료시 (n=5)에 은연어로부터 채혈하여 분석에 사용하였다. 한편, 실험에 사용한 어류는 실험하기 3일전부터 사료공급을 중지하였다.

채혈과 혈청분석 : 실험개체를 마취시키지 않은 상태에서 꼬리 정맥으로부터 주사기 (헤파린 미처리)로 3 ml정도 채혈하였다. 각 개체의 포획에서 채혈하기까지의 소요시간은 1분 이내에 실시하였다. 혈액을 헤파린 처리하지 않은 원심관에 담아 상온에서 방치하여 자연침강시킨 뒤 원심분리 (3,000 rpm, 20분) 하고 상등액인 혈청을 얻었으며 분석하기까지 -80℃의 냉동고 (MDFU 5086 WBT, Sanyo, Japan)에서 보관하였다.

스트레스 반응을 분석하기 위해서, 우선 1차 내분비 스트레스 반응의 지표로는 코티졸을, 그리고 2차반응의 지표로는 혈당을

비롯하여 젖산, 콜레스테롤과 중성지방 등의 지질, 1가 이온의 전해질류, 각종 아미노산 대사와 해당 (glycolysis) 경로에 작용하는 효소를 대상으로 측정하였다. 즉, 코티졸은 혈청 50 μl 를 사용하여 검체내의 항원과 ^{125}I 로 표식한 항원이 양(羊)에서 만든 항코티졸 항체의 한정된 결합부위에 결합하려고 경쟁적으로 반응하는 것을 이용한 시판용 kit (Amerlex Cortisol RIA kit, Kodak Clinical Diagnostic Ltd., Amersham, U.K.)를 이용하여 γ -counter (Wizard 1470, Wallae Co., U.S.A.)로 정량하였다. 그리고 혈청 중의 생화학 성분은 혈청 10 μl 를 사용하여 건식 (dry-type) 혈액분석기 (Vitros DT II, Johnson and Johnson, U.S.A.)로 중성지방 (triglyceride, TG), 콜레스테롤 (cholesterol, CHOL), 포도당 (glucose, GLC), 젖산 (lactic acid, LAC) 등의 농도와 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), 젖산탈수소효소 (lactate dehydrogenase, LDH) 등의 효소 활성과 전해질인 칼륨 (potassium, K^+), 나트륨 (sodium, Na^+), 염소 (chloride, Cl^-)의 농도를 정량하였다.

통계분석: 모든 측정값은 Statistical Analysis System (SAS) Procedure로 처리하였고, 각 혈청성분의 유의성 검정은 Duncan's Multiple Range Test로 하였다.

결과 및 고찰

어류에게 핸들링 파위의 스트레스를 주면 혈액중 코티코스테로이드 (Thomas et al., 1980), 카테콜아민 (Avella et al., 1991)의 양태가 변하며, 이런 현상은 연어과 어류에서도 마찬가지로 확인되고 있다 (Pickerling and Christie, 1981; Sumpter et al., 1986; Floeysand et al., 1992; Waring et al., 1992).

그물작업이 은연어의 스트레스에 미치는 영향을 살펴보고자 작업 초기와 종료시에 은연어로부터 혈액을 채혈하여 혈청 중의 코티졸을 비롯한 각종 생화학 성분의 변화를 Fig. 1~4에 나타내었다.

그물작업 초기에는 은연어 혈청 중 코티졸 농도가 $4.3 \pm 0.6 \mu\text{g}/100 \text{ml}$ 이었는데 2시간 정도 작업한 후에는 $39.6 \pm 2.9 \mu\text{g}/100 \text{ml}$ 나 되어 초기에 비해 약 9배 가량 증가하여 유의적인 차이 ($p < 0.05$)를 보였다 (Fig. 1). 연어과 어류의 코티졸 농도는 휴식기에 $2 \sim 4 \mu\text{g}/100 \text{ml}$ 정도 (Avella et al., 1991)라 알려져 있어 본 연구의 초기 농도와도 비슷한 수준이었다. 그러나 급성의 핸들링 스트레스를 받으면 코티졸 농도가 약 4배 정도 상승한다 (Pickerling et al., 1982; Avella et al., 1991)는 것에 비해 본 연구에서는 이보다 훨씬 상승폭이 큰 것은 2시간의 그물작업이 매우 강도 높은 스트레스로 작용했기 때문일 것이다. 은연어가 단시간의 핸들링 스트레스를 받으면 코티졸 농도가 급격하게 증가한 다음 곧 감소하지만 수용 밀도를 높이는 등의 만성적인 스트레스를 주면 증가한 수준이 급성일 때보다 더 오래 지속된다 (Avella et al., 1991). 그리고 급성의 스트레스라도 지속시간이 길어지면 코티졸 수준도 높아진다는 것이 알려지고 있다. 즉, 해산어인 blue mao mao (*Scorpio violaceus*)도 단시간 가두어두면 코티졸 농도가

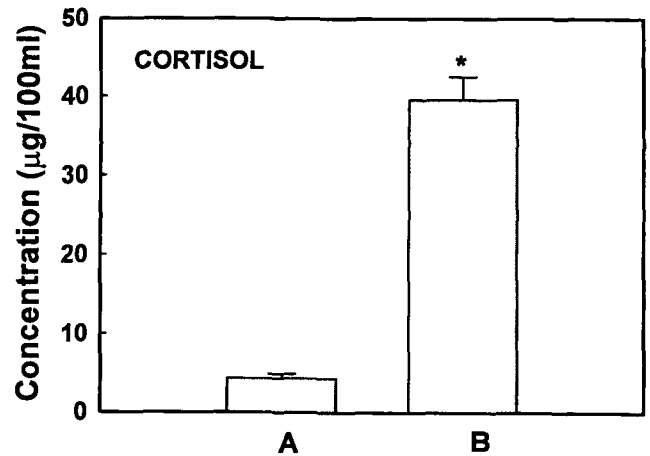


Fig. 1. Comparison in serum cortisol concentration of coho salmon by limiting sphere of activity and driving into a corner for netting. All values are mean \pm S.D. Asterisks indicate a significant difference between two samples ($p < 0.05$). A: before limiting, B: fish remained after netting process (2 hr)

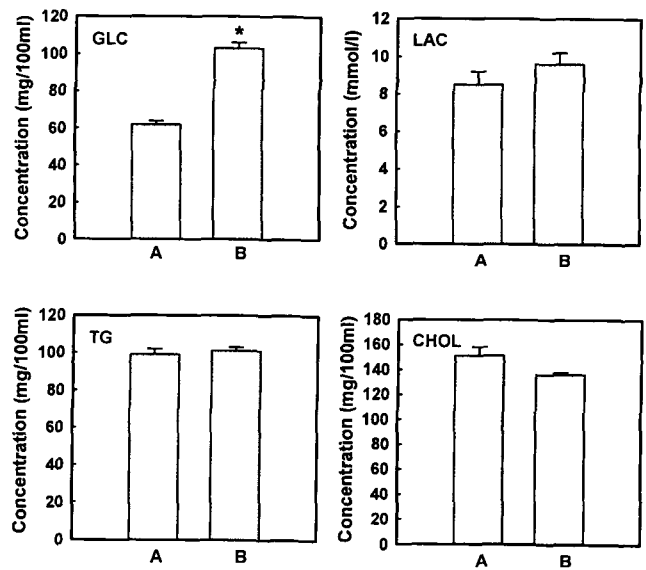


Fig. 2. Comparison in serum glucose (GLC), triglyceride (TG), cholesterol (CHOL) and lactate (LAC) concentration of coho salmon by limiting sphere of activity and driving into a corner for netting. All values are mean \pm S.D. Asterisks indicate a significant difference between two samples ($p < 0.05$). A and B refer to Fig. 1.

휴식 상태에 비해 10배 정도 상승하지만, 30~60분간 계속해서 스트레스를 주었더니 약 90배나 증가하였다 (Parkhulst et al., 1992)고 한다.

그물작업의 초기와 종료시에 채혈한 은연어의 혈청중 혈당 (GLC), 젖산 (LAC), 콜레스테롤 (CHOL), 중성지방 (TG) 수준은 Fig. 2와 같다. 스트레스는 어류의 GLC (Wedemeyer, 1972;

Pickerling et al., 1982; Avella et al., 1991; Waring et al., 1992) 뿐만 아니라, LAC (Pickerling et al., 1982; Waring et al., 1992), CHOL (Wedemeyer, 1972) 등에도 영향을 미친다고 알려져 있다. 더우기 연어과 어류인 브라운송어 (*Salmo trutta*)에서는 암수에 따라서도 스트레스 반응으로서 GLC의 증가경향이 다르다고 알려져 있다 (Melotti et al., 1992). TG, CHOL 및 LAC 농도는 작업 초기와 종료시에 거의 변화가 없었지만, GLC는 유의적인 차이 ($p < 0.05$)가 있었다. 즉, 은연어는 그물작업 초기에 $62 \pm 2 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ 이던 것이 작업 종료시에는 $103 \pm 3 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ 으로 증가하여 약 80% 증가하였다. 이처럼 GLC 농도가 증가하는 것은 어류의 일반적인 스트레스 반응으로서, 직면한 스트레스에서 일탈하기 위해 필요한 에너지를 보급받기 위한 현상인 듯 하다 (Barton and Schreck, 1987). LAC 농도도 스트레스로 인해 많이 상승했을 것으로 예상하였지만 실제로는 $8.5 \pm 0.7 \text{ mmol}/\ell$ 에서 $9.6 \pm 0.6 \text{ mmol}/\ell$ 로 밖에 증가하지 않았다. 이처럼 LAC의 증가가 크지 않았던 것은 생성량이 많지 않았다고 보다는 장시간에 걸친 강도높은 그물작업으로 인해 만들어진 성분이 상당량 소진되었을 가능성이 더 크다고

여겨진다. 즉, 지속적인 그물작업은 은연어로 하여금 쉴새없이 움직이게 만들고, 이로 인하여 체내에 호기적인 상태보다 혐기적인 상태가 되어 필요한 에너지를 얻으려면 혐기적인 해당작용이 일어난다. 이렇게 생성된 포도당은 계속하여 대사되어 피루브산이 되었다가 마지막으로 젖산이 만들어지는데, 피루브산과 젖산과의 대사에 관여하는 LDH의 활성이 작업 초기에 비해 종료시에 약 60%나 높아 유의적인 차이 ($p < 0.05$)를 나타내는 것이 이를 뒷받침해 준다 (Fig. 3).

한편, 혈청 중의 효소 활성을 비교해 보면 (Fig. 3), 아미노산전효소 중 ALT는 작업에 따른 스트레스에 상관없이 $11 \sim 14 \text{ U}/\ell$ 의 수준이었지만, AST는 그물작업에 의해 $224 \pm 13 \text{ U}/\ell$ 에서 $285 \pm 53 \text{ U}/\ell$ 로 약 30% 가량 증가하였고, 해당작용에 관여하는 LDH는 $7,340 \pm 615 \text{ U}/\ell$ 에서 $11,733 \pm 1,341 \text{ U}/\ell$ 로 유의적인 차이 ($p < 0.05$)를 보일 정도로 증가하였다.

한편 혈장 전해질도 스트레스에 의해 영향을 받는다 (Wedemeyer, 1972; Davis and Parker, 1983; Avella et al., 1991)고 하지만,

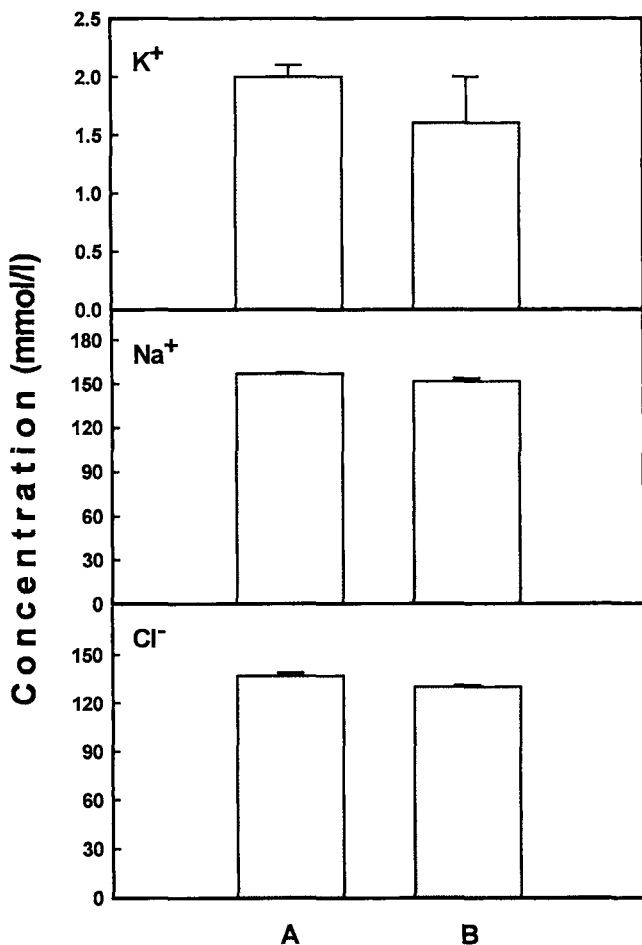


Fig. 3. Comparison in serum potassium (K^+), sodium (Na^+) and chloride (Cl^-) concentration of coho salmon by limiting sphere of activity and driving into a corner for netting. All values are mean \pm S.D. A and B refer to Fig. 1.

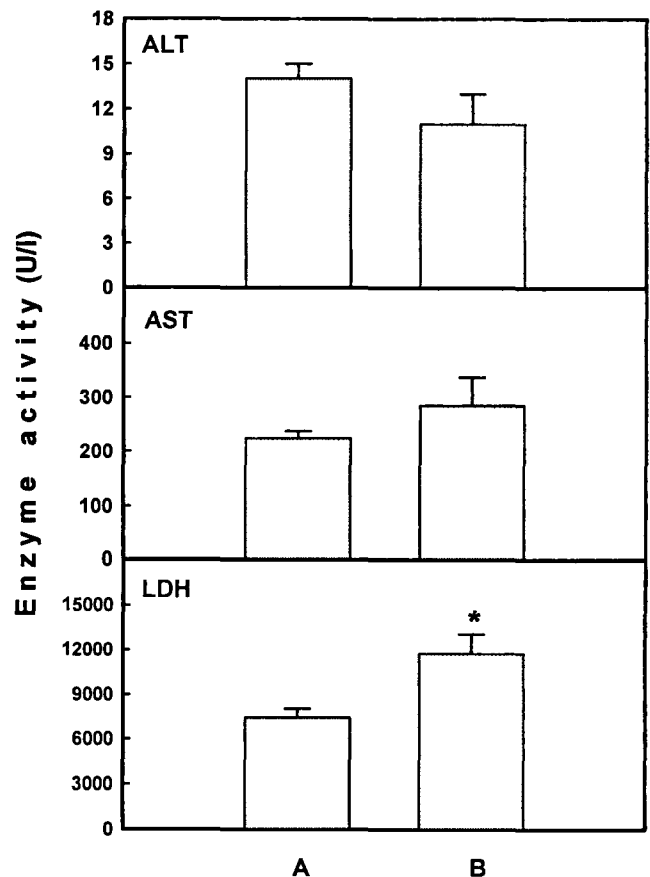


Fig. 4. Comparison in serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) activity of coho salmon by limiting sphere of activity and driving into a corner for netting. All values are mean \pm S.D. Asterisks indicate a significant difference between two samples ($p < 0.05$). A and B refer to Fig. 1.

본 실험에서는 K^+ , Na^+ , Cl^- 농도 (mM/l)가 작업 전후에 각각 2.0 ± 0.1 과 1.6 ± 0.4 , 157 ± 1 과 152 ± 2 , 137 ± 2 과 130 ± 1 으로 큰 차이가 없었기에 그물작업에 의해서는 삼투압의 불균형이 일어나지 않았음을 알 수 있었다 (Fig. 4).

이상의 결과를 종합하면, 2시간에 걸친 가두기 (confinement)와 그물작업으로 인해서 은연어는 상당한 스트레스를 받아 1차적으로는 코티졸이 증가하였으며, 이와 함께 GLC와 LDH 활성이 유의적으로 증가하였다. 이 밖에 각종 전해질과 ALT, AST, TG 및 CHOL 농도는 큰 차이가 없었다.

요 약

은연어는 국내에서도 양식되고 있는 고급어종으로 생산량도 매년 증가추세에 있다. 스몰트까지 담수에서 사육한 은연어는 이후에 해수로 옮겨 사육하는데, 육상에서 해상으로의 운반과정에서 그물작업이나 가두기는 피할 수 없는 과정이다. 이로 인해 어류는 상당한 스트레스를 받아 해상사육 과정에서 폐사하기도 한다. 본 연구는 그물작업이 은연어의 스트레스에 미치는 영향을 살펴보고자 2시간의 그물작업을 한 전후에 1차 스트레스 반응의 지표로 코티졸의 농도를, 그리고 2차 반응지표로 혈당, 중성지방, 콜레스테롤, 젖산 및 K, Na, Cl 등의 전해질 농도와 함께 ALT, AST와 LDH의 활성을 조사하였다. 그 결과, 이들 그물작업으로 인해 연어의 코티졸, 혈당 농도 및 LDH 활성은 유의적 ($p < 0.05$)으로 증가하였기에 은연어가 상당한 스트레스를 받는다는 것을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 지정 강릉대학교 동해안해양생물자원 연구센터 및 과학기술부의 지원에 의해 수행되었고, 분석에 사용한 혈액분석기는 교육부의 신진교수 연구기자재사업에 의한 지원금으로 구입한 것입니다.

참 고 문 헌

- Avella, M., C.B. Schreck and P. Prunet. 1991. Plasma prolactin and cortisol concentrations of stressed coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in freshwater. Gen. Comp. Endocrinol., 81, 21~27.
- Barton, B.A. and C.B. Schreck. 1987. Metabolic cost of acute physical stress in juvenile steelhead. Trans. Am. Fish. Soc., 116, 257~263.
- Davis, K.N. and N.C. Parker. 1983. Plasma corticosteroid and chloride dynamics in rainbow trout, Atlantic salmon, and lake trout during and after stress. Aquacult., 32, 189~194.
- Floeysand, R., J.A. Ask, G. Serck-Hassen and K.B. Helle. 1992. Plasma catecholamines and accumulation of adrenaline in the atrial cardiac tissue of aquacultured Atlantic salmon (*Salmo salar*) during stress. J. Fish. Biol., 41, 103~111.
- Mazeud, M.M., F. Mazeud and E.M. Donaldson. 1977. Primary and secondary effects of stress in fish : some new data with a general review. Trans. Am. Fish. Soc., 106, 201~212.
- Melotti, P., A. Roncarati, E. Garella, O. Carnevali, G. Mosconi and A. Polzonetti-Magni. 1992. Effects of handling and capture stress on plasma glucose, cortisol and androgen levels in brown trout, *Salmo trutta morpha fario*. J. Appl. Ichthyol., 8, 234~239.
- Parkhulst, N.M., R.M.G. Wells and J.F. Carragher. 1992. Effects of stress on plasma cortisol levels and blood viscosity in blue mao mao, a marine teleost. Comp. Biochem. Physiol., 101A, 335~339.
- Pickerling, A.D. and P. Christie. 1981. Changes in the concentrations of plasma cortisol and thyroxine during sexual maturation of the hatchery-reared brown trout, *Salmo trutta* L. Gen. Comp. Endocrinol., 44, 487~496.
- Pickering, A.D., T.G. Pottinger and P. Christie. 1982. Recovery of the brown trout, *Salmo trutta* L., from acute handling stress : a time-course study. J. Fish Biol., 20, 229~244.
- Robertson, L., P. Thomas and C.R. Arnold. 1988. Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and a disease outbreak. Prog. Fish. Cult., 49, 1~12.
- Schreck, C.B. 1981. Stress and compensation in teleostean fishes : responses to social and physical factors. In *Stress in fish*, A. S. Pickering. ed. Academic Press, London, pp. 295~321.
- Selye, H. 1973. The evolution of the stress concept. American Scientist 61. 692~699.
- Smith, L.S. 1982. Introduction to fish physiology. T.F.H. Publication, Neptune City, New Jersey.
- Sumpster, J.P., H.M. Dye and T.J. Benfey. 1986. The effects of stress on plasma ACTH, α -MSH, and cortisol levels in salmonid fish. Gen. Comp. Endocrinol., 62, 377~385.
- Thomas, P., B. Woodin and J.M. Neff. 1980. Biochemical responses of striped mullet *Mugil cephalus* to oil exposure. I. Acute responses-interrenal activation and secondary stress responses. Mar. Biol., 59, 141~149.
- Wardle, C.S. 1981. Physiological stress in captive fish. In *Aquarium Systems*, A.D. Hawkins ed. Academic Press, London, pp.403~414.
- Waring, C.P., R.M. Stagg and M.G. Poxton. 1992. The effects of handling on flounder (*Platichthys flesus* L.) and Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). J. Fish Biol., 41, 131~144.
- Wedemeyer, G. 1972. Some physiological consequences of handling stress in the juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and steelhead trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Bd. Can., 29, 1780~1783.

1999년 11월 1일 접수

2000년 3월 6일 수리