

담수 및 염수 수송이 은연어의 스트레스 반응에 미치는 영향

전중균 · 김병기* · 박용주** · 명정구** · 김종만**

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

Stress responses of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, to transport in fresh water or salt water

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

To study the stress response of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during transportation, the stress responses of the fish confined in a container box filled with freshwater or 5‰ salt-water were monitored pre and post 10 hours transportation. Changes of cortisol as the first stress indicator, and glucose (GLC), lactate (LAC), triglyceride (TG), cholesterol (CHOL), sodium (Na⁺), chloride (Cl⁻), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) as the second stress indicators were compared between the fish in two hauling media. Results showed significantly lower levels of cortisol, GLC, LAC, TG, CHOL and AST in salt-water group than freshwater group. It was shown that using salt-water for transportation could lessen the stress level of the coho salmon.

Key words: Coho salmon, Transportation, Hauling media, Stress, Cortisol

서 론

어류는 다양한 스트레스 (stressor)에 대해 시상하부-뇌하수체-부신축 (HPI)이 활성화되어 코티코스테로이드가 분비되는 한편 아드레날린 시스템도 활성화 되어 카테콜아민이 분비되어 반응한다 (Mazeaud et al., 1977; Donaldson, 1981; Mazeaud and Mazeaud, 1981). 이러한 에너지 대사반응은 스트레스를 받은 어류에게 당장은 이로울지 모르지만 이온조절 능력에 혼란을 일으켜서 담수어는 스트레스때문에 혈장의 삼투압이 떨어지고 해산어는 반대로 올라가는 일이 생기기도 하고 (Wedemeyer et al., 1990; Barton and Iwama, 1991), 더욱이 이런 스트레스를 장기간 받으면 성장 감소, 질병 감염률의 증가, 항상성 (homeostasis) 유지능력의 저하, 다른 스트레스에 대한 저항 능력 감소, 면역력 저하를 일으킨다 (Pickering et al., 1991; Vijayan and Moon, 1992; Fevolden et al., 1993a, 1993b; Schreck et al., 1993).

냉수성 어종인 은연어 (*Oncorhynchus kisutch*)는 북유럽 국가를 중심으로 양식되고 있으며, 우리 나라에서도 약 15년 전부터 양식기술이 개발되어 소규모로 양식하고 있다 (KORDI, 1988). 즉, 미국에서 도입한 수정란을 육상시설에서 부화시켜 약 100~150g으로 사육한 다음 해상시설로 옮겨 상품크기인 1.5 kg 정도로 사육한다. 하지만 육상시설과 해수가두리가 인접해 있지 않아 부득이 육상시설에서 포획한 은연어를 운송수단을 활용하여 옮기는 과정이 필요한데, 이때 어류는 상당한 스트레스를 받을 것으로 여겨진다. 따라서 운송작업이 은연어에게 어느 정도 스트레스로 작용하는지를 파악하기 위하여 운반과정 전후에 은연어의 혈액을 채혈하여 코티졸 (cortisol) 농도와 몇가지 스트레스 반응의 지표로 이용되는 생화학 성분을 조사하였다. 더욱이 은연어의 운반시 염수를 매질로 사용하였을 경우에 담수만으로 운반한 것과 스트레스

반응 정도를 비교하여 보았다.

재료 및 방법

실험어류 : 미국에서 수입한 알을 육상수조에서 약 10개월간 사육한 은연어 (체중 150 ± 15 g)를 사용하였다.

운송작업 : 강원도 원주시에 위치한 육상시설에서 사육한 은연어를 오전 4시경부터 약 2시간 동안 쪽대작업으로 수조 (2×4×0.6 m)가 장착된 차량에 약 500 kg을 옮겨신고 (수용밀도 약 1 kg m⁻³), 경남 통영시에 위치한 해상가두리까지 포장된 국도와 고속도로를 거쳐 약 10시간을 운반하였다. 운반하는 동안 수조의 용존산소 농도는 10~13 mg/l가 되도록 산소탱크를 통해 공급하였으며, 운반 중의 수온은 평균 13℃였다. 운반 중 운송매질에 따른 스트레스 반응의 차이를 조사하기 위해 어류를 담수에 채워 운반한 것 (담수운반구)과 담수에 식염을 풀어 염도를 약 5‰로 조절하여 운반한 것 (염수운반구)으로 구분하여 운반하였으며, 운반 전과 운반 직후에 채혈하여 혈액분석에 공시하였다. 한편, 운반작업을 하기 3일전부터 은연어에게는 사료공급을 중지하였다.

채혈과 혈청분석 : 운반에 따른 스트레스 반응을 조사하기 위하여 수조에 옮겨신는 동안 (n=15)과 운반을 마친 담수운반구 (n=10)와 염수운반구 (n=10)의 은연어로부터 각각 채혈하여 분석에 사용하였다. 즉, 마취하지 않은 상태로 꼬리정맥에서 주사기 (헤파린 미처리)로 3 ml 가량 채혈하였으며, 혈액은 원심관에 담아 상온에서 자연침강시킨 뒤 원심분리 (3,000 rpm, 20분) 하였고, 상등액인 혈청은 액체질소에 담아 연구실로 운반하여 분석하기까지 -80℃의 냉동고 (MDFU 5086WBT, Sanyo, Japan)에서 보관하였다.

스트레스 반응의 분석은 전보 (Jeon et al., 1999)와 마찬가지로, 1차 내분비 스트레스 반응의 지표인 코티졸은 시판 kit를 사용하여 혈청 50 μ l로 분석하였고, 2차반응의 지표인 중성지방 (triglyceride, TG), 콜레스테롤 (cholesterol, CHOL), 포도당 (glucose, GLC), 젖산 (lactic acid, LAC), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), 젖산탈수소효소 (lactate dehydrogenase, LDH) 등의 효소, 전해질인 나트륨 (sodium, Na⁺), 염소 (chloride, Cl⁻)는 혈청 10 μ l를 사용하여 각각 건식 (dry-type) 혈액분석기 (Vitros DT II, Johnson and Johnson, U.S.A.)로 정량하였다.

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

결과 및 고찰

어류를 운반하노라면 서로 부딪쳐서 외상을 입거나, 운반 중에 받은 스트레스가 제대로 회복되기도 전에 또 다른 스트레스를 받아 폐사하는 수가 있다 (Specker and Schreck, 1980; Johnson and Metcalf, 1982; Carmichael, 1984). 그리고 스트레스를 받으면 코티코스테로이드나 혈당, 전해질, 삼투질 농도의 양태가 변하는 것은 물론이고 (Hattingh and Van Pletzen, 1974; Aldrin et al., 1979; Nikinmaa et al., 1983), 헤마토크리트, 헤모글로빈, 혈장단백질, pH, 혈구수 등도 변한다 (Ejike and Schreck, 1980; Carmichael et al., 1983; Carmichael, 1984)고 알려져 있다. 더욱이 이런 스트레스가 장기간 계속되면 어류는 성장 감소, 질병 감염률의 증가, 항상성 (homeostasis) 유지능력의 저하, 다른 스트레스에 대해 저항 능력 감소, 면역력 저하와 같은 부정적인 영향을 받는다 (Pickering et al., 1991; Vijayan and Moon, 1992; Fevolden et al., 1993a, 1993b; Schreck et al., 1993).

따라서 스트레스를 줄이기 위하여 사육하는 동안 비타민 C 또는 마그네슘 (Dabrowska et al., 1991) 등을 사료에 혼합하여 투여하기도 하고, 평상시에 적당하게 운동부하 (Boesgaard et al., 1993)를 가하기도 한다. 한편, 운반시에는 마취제 (Solomon and Hawkins, 1981; Thomas and Robertson, 1991)를 사용하기도 하지만, 그 효과에 관해서는 아직 입증된 바가 없다.

운반작업 전후에 은연어 혈청중 코티졸 농도는 Fig. 1과 같다. 스트레스를 받으면 어류 부신조직의 활성이 영향을 받기에, 그 정도를 추정하는 방법으로 조직병리적으로는 세포핵의 평균 직경, 세포 크기, 세포 RNA를 측정하기도 하지만 (Donaldson, 1981), 부신피질에서 분비되는 코티졸의 농도를 재는 것이 일반적이다 (Balment and Henderson, 1987). 본 연구에서, 운반하기 전에는 은연어의 코티졸 농도가 평균 14.9 \pm 5.5 μ g/100 ml이던 것이 염수 (5%)와 담수로 10 시간 운반과정을 거친 후에는 각각 26.2 \pm 1.5 및 43.0 \pm 3.0 μ g/100 ml이 되어 운반전에 비해 약 75%와 170%가 증가하였다. 담수운반구의 증가가 훨씬 컸으며, 두 운반구 간에는 유의적인 차이 ($p < 0.05$)가 있었다.

운반작업 전후에 은연어 혈청의 GLC, LAC, TG 및 CHOL의 농도는 Fig. 2와 같다. GLC 농도는 운반하기 전에는 73 \pm 6 mg/100 ml이었던 담수 또는 염수운반 후에는 각각 처음 농도의 1/3~1/2 수준인 25 \pm 1 및 37 \pm 3 mg/100 ml로 감소하여 염수운반구가 담수운반구 보다 더 낮았으며, 두 운반구 간에는 유의적인 차이 ($p < 0.05$)가 있었다. 그러나 LAC 농도는 운반하기 전에 8.8 \pm 0.6 mmol/l이던 것이 운반 후에는 15.5 \pm 0.4 (염수운반구) 및 22.6

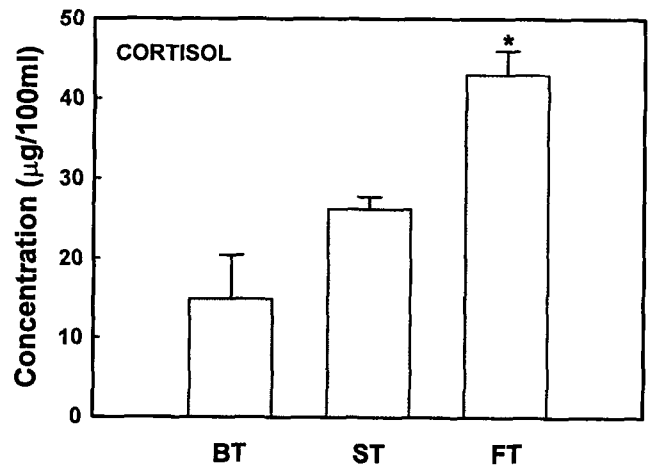


Fig. 1. Comparison in serum cortisol concentration of coho salmon by hauling medium of transport (10 hr). All values are mean \pm S.D. Asterisk indicates a significant difference between ST and FT samples ($p < 0.05$). BT, before transport; ST, after transport in 5‰ saltwater; FT, after transport in freshwater.

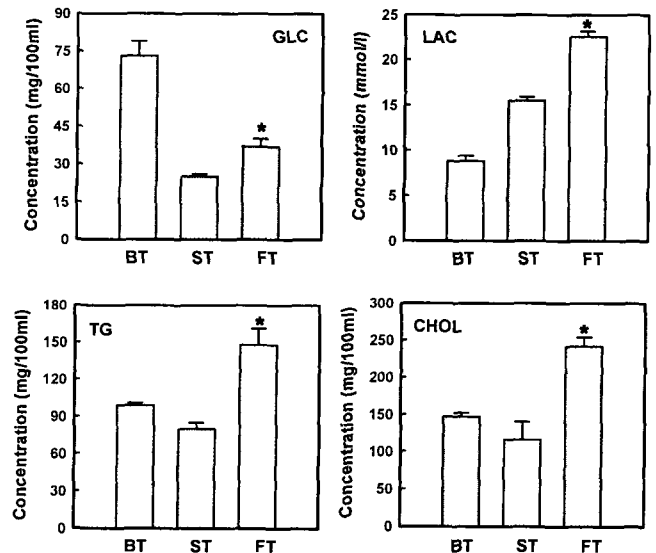


Fig. 2. Comparison in serum glucose (GLC), triglyceride (TG), cholesterol (CHOL) and lactate (LAC) concentration of coho salmon by hauling medium of transport (10 hr). All values are mean \pm S.D. Asterisk indicates a significant difference between ST and FT samples ($p < 0.05$). BT, ST and FT are refer to the comment in Fig. 1.

$\pm 0.6 \text{ mmol/l}$ (담수운반구)로 2~3배가 증가하였으며, 담수운반구가 염수운반구 보다 유의적 ($p < 0.05$)으로 더 높아 담수로 운반한 개체들이 더 지쳤음을 알 수 있었다. 한편 지질 성분인 TG와 CHOL 농도는 운반 전의 수준이 각각 99 ± 2 와 $147 \pm 5 \text{ mg/100 ml}$ 이었던 것이 염수와 담수로 운반한 후에는 각각 80 ± 5 , 116 ± 24 및 148 ± 13 , $242 \pm 12 \text{ mg/100 ml}$ 로 증가하여 담수운반구가 염수운반구에 비해 유의적 ($p < 0.05$)으로 높았다.

그리고 운반작업 전후에 은연어 혈청 중 전해질 (Na^+ 와 Cl^-) 농도는 Fig. 3과 같다. 전해질 농도의 변화도 스트레스 반응으로 나타난다고 하지만, 본 연구에서는 운반작업 중 운송매질에 관계없이 Na^+ ($150 \sim 154 \text{ mmol/l}$)와 Cl^- ($128 \sim 129 \text{ mmol/l}$)수준이 운반하기 전 (Na^+ 155 mmol/l , Cl^- 135 mmol/l)과 거의 차이가 없었다.

한편 운반작업 전후에 은연어 혈청 중 아미노산전이효소 (ALT, AST)와 탄수화물대사 관련효소 (LDH) 활성은 Fig. 4와 같다. 염수운반구의 ALT 활성 ($14 \pm 2 \text{ U/l}$)은 운반하기 전 ($14 \pm 1 \text{ U/l}$)과 변함이 없었지만 담수운반구에서는 $31 \pm 2 \text{ U/l}$ 나 되어 약 2배 증가하여 두 운반구 간에는 유의적인 차이 ($p < 0.05$)가 있었다. AST 활성의 경우도 이와 비슷하여, 운반 전 ($241 \pm 18 \text{ U/l}$)에 비하여 염수운반구 ($327 \pm 65 \text{ U/l}$)는 담수운반구 ($800 \pm 137 \text{ U/l}$)

에 비하여 상당히 안정적이었으며, 두 운반구 간에도 유의차 ($p < 0.05$)가 있었다. 한편, LDH 활성은 운반 전 ($9,580 \pm 615 \text{ U/l}$)에 비해 운반 후에는 매질에 관계없이 $12,825 \pm 1,340$ (담수운반구) $\text{U/l} \sim 12,960 \pm 148 \text{ U/l}$ (염수운반구)로 약간 상승하는 경향을 보였지만 두 운반구 간에는 유의차가 없었다.

본 결과를 앞서 2시간 동안의 가두기와 그물작업에 의한 스트레스 반응 결과 (Jeon et al., 1999)와 비교하였더니, 그물작업으로는 코티졸, GLC와 LDH 만이 유의적으로 증가했던 것에 비해서, 운반작업으로는 코티졸, GLC, LAC, TG, CHOL, AST 및 ALT가 유의적으로 증가하였으므로 장시간의 운반작업이 강력한 스트레스로 작용했음을 알 수 있었다. 한편, 본 실험에서는 운반 도중에 폐사한 개체는 없었다.

본 연구에서는 은연어의 운반시 담수를 사용한 것보다는 약간의 염분을 첨가한 염수를 사용하였을 때 1차 스트레스 지표물질인 코티졸을 비롯하여 2차 지표물질인 GLC, LAC, TG, CHOL, AST 및 ALT가 유의적인 차이를 보이며 안정적인 경향을 보였는데, 이것은 염수운반이 담수운반보다 어류의 스트레스를 다소 완화시킨

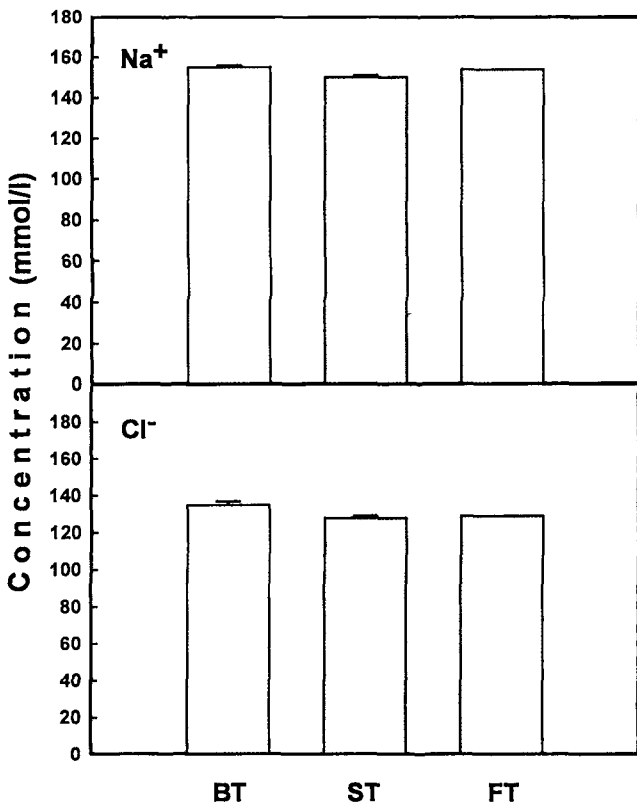


Fig. 3. Comparison in serum sodium (Na^+) and chloride (Cl^-) concentration of coho salmon by hauling medium of transport (10 hr). All values are mean \pm S.D. BT, ST and FT are refer to the comment in Fig. 1.

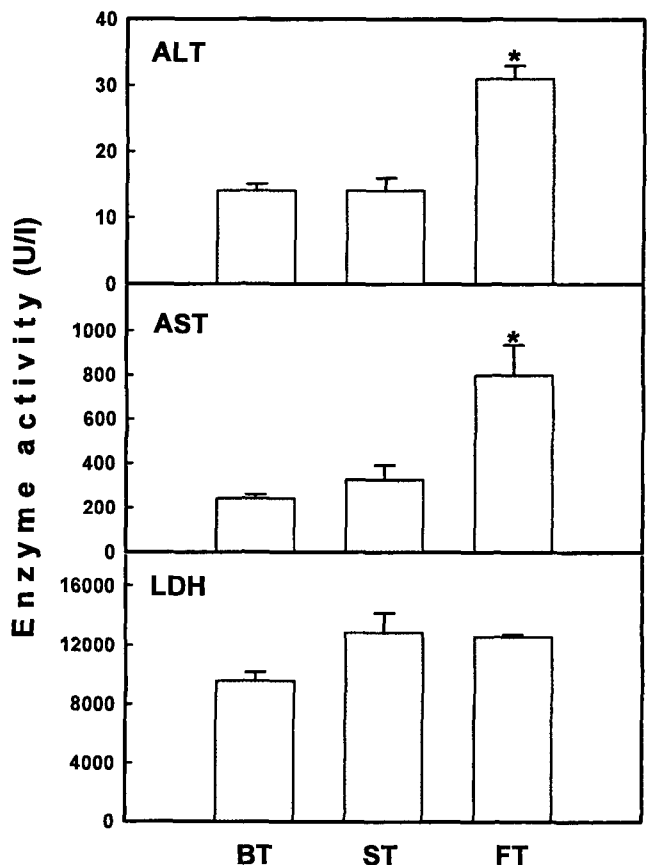


Fig. 4. Comparison in serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) activity of coho salmon by hauling medium of transport (10 hr). All values are mean \pm S.D. Asterisks indicate a significant difference between ST and FT samples ($p < 0.05$). BT, ST and FT are refer to the comment in Fig. 1.

다는 것을 보여준다. 이런 결과는 Solomon and Hawkins (1981), Johnson and Metcalf (1982) 및 Nikinmaa et al. (1983)에 의해서도 확인된 바 있다. 즉, 운반시에 담수에 소금을 풀어 염도를 3~10‰로 조절하여 어류를 운반하면 담수만으로 운반한 것에 비하여 스트레스를 적게 받는데, 이는 식염을 첨가하면 운반 매질과 어류의 체액 간에 삼투압의 농도차가 적어져서 삼투압의 불균형 때문에 일어나는 부정적인 영향을 피할 수 있기 때문이라 한다. 그러나 Mazik et al. (1991)은 striped bass (*Morone saxatilis*)의 운반시에 1% NaCl의 염수를 사용하였더니 운반 후에 생존율의 증가, 코티졸과 혈당 상승의 억제 및 전해질의 불균형 완화와 같은 효과가 있었지만 1% CaCl₂를 사용하였을 경우에는 이런 효과가 없었다고 하였는데 이는 용질의 차이에 따른다고 여겨진다.

앞으로는, 은연어처럼 스몰트가 되면 스스로 바다로 내려가기 위한 생리적인 내부준비가 되어 있는 종에 관해서는 장거리 운반에서 오는 생리적 부담을 줄이기 위한 적정 운반 밀도나 시간, 시기 또는 온도 등의 요인에 대하여 세심한 검토가 필요하다.

요 약

은연어가 운반과정 중에 어느 정도 스트레스를 받는지 조사하기 위하여 어류를 각각 담수와 염수 (5‰)를 채운 수조차에 넣고 10시간 운반하였다. 운반하기 전후에 혈청 중의 1차 스트레스 지표 물질인 코티졸을 비롯하여 2차 지표물질인 GLC, LAC, TG, CHOL, 전해질 (Na⁺, Cl⁻), 효소 (ALT, AST, LDH) 활성을 측정하여 두 운반구 간의 차이를 비교하였다. 그 결과, 운반작업은 은연어에게 상당한 스트레스를 주는 것으로 확인되었으나, 운반방법에 따라서는 스트레스 반응에 차이가 있었다. 즉, 담수운반구에 비해 염수운반구는 코티졸, GLC, LAC, TG, CHOL, AST 및 ALT가 유의적인 차이를 보이며 낮은 수준이었다. 이것으로 은연어의 운반시에는 담수보다 염수를 사용하는 것이 스트레스를 줄일 수 있다는 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 구입하였기에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Aldrin, J.F., J.L. Messager and M. Mevel. 1979. Essai sur le stress de transport chez le saumon coho juvenile (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquacult.*, 17, 279~289.
- Balment, R.J. and Henderson. 1987. Secretion of endocrine glands and their relationship to osmoregulation. In *Fundamentals of Comparative Endocrinology*, I.C. Jones, P.M. Ingleton and J.G. Phillips, eds. Plenum Press, New York, pp. 413~508.
- Barton, B.A. and G.K. Iwama. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the responses and effects of corticosteroids. *A. Rev. Fish Diseases*, 1, 3~26.
- Boesgaard, L., M.E. Nielsen and P. Rosenkilde. 1993. Moderate exercise decreases plasma cortisol levels in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 106A, 641~643.
- Carmichael, G.J. 1984. Long distance truck transport of intensively reared largemouth bass. *Prog. Fish Cult.*, 46, 111~115.
- Carmichael, G.J., G.A. Wedemeyer, J.D. McCraren and J.L. Millard. 1983. Physiological effects of handling and hauling stress on smallmouth bass. *Prog. Fish Cult.*, 45, 110~113.
- Dabrowska, H., K. Dabrowski, K. Meyer-Burgdorff, W. Hanke and K. O. Gunther. 1991. The effect of large doses of vitamin C and magnesium on stress responses in common carp, *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 99A, 681~685.
- Donaldson, E.M. 1981. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In *Stress and Fish*, A.D. Pickering, ed. Academic Press, London, pp. 11~47.
- Ejike, C. and C.B. Schreck. 1980. Stress and social hierarchy rank in coho salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 109, 423~426.
- Fevolden, S.E., R. Nordmo, T. Refstie and K.H. Røed. 1993a. Disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) selected for high or low responses to stress. *Aquacult.*, 109, 215~224.
- Fevolden, S.E. and K.H. Røed. 1993b. Cortisol and immune characteristics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for high or low responses to stress. *J. Fish Biol.*, 43, 919~930.
- Hattingh, J. and A.J. Van Pletzen. 1974. The influence of capture and transportation on some blood parameters of freshwater fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 49A, 607~609.
- Jeon, J.K., P.K. Kim, Y.J. Park, J.G. Myoung and J.M. Kim. 1999. Changes of serum cortisol concentration and stress responses in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) to netting. *J. Kor. Fish. Soc.*, (in submit) (in Korean).
- Johnson, D.L. and M.T. Metcalf. 1982. Causes and controls of freshwater drum mortality during transportation. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 111, 58~62.
- KORDI. 1988. Study on the development of culture technics for salmonids. BSPG 00066-202-3. p.187 (in Korean).
- Mazeaud, M.M. and F. Mazeaud. 1981. The role of catecholamines in the stress response of fish. In *Stress and Fish*, A.D. Pickering, ed. Academic Press, London, pp. 49~75.
- Mazeaud, M.M., F. Mazeaud 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.
- Mazik, P.M., B.A. Simco and N.C. Parker. 1991. Influence of water hardness and salts on survival and physiological characteristics of striped bass during and after transport. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 120, 121~126.
- Nikinmaa, M., A. Soivio, T. Nakari and S. Lindgren. 1983. Hauling stress in brown trout (*Salmo trutta*): physiological responses to transport in fresh water or salt water, and recovery in natural brackish water. *Aquaculture*, 34, 93~99.
- Pickering, A.D., T.G. Pottinger, J.P. Sumpter, J.F. Carragher and P.Y. Le Bail. 1991. Effects of acute and chronic stress on the levels of circulating growth hormone in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 83, 86~93.

- Schreck, C.B., A.G. Maule and S.L. Kaattari. 1993. Stress and disease resistance. In *Recent Advances in Aquaculture IV*. Muir, J.F. and R.J. Roberts eds. Blackwell Sci. Pub., Oxford, pp. 170~175.
- Solomon, D.J. and A.D. Hawkins. 1981. Fish capture and transport. In *Aquarium systems*. A.D. Hawkins ed., Academic Press, London, pp.197~221.
- Specker, J.L. and C.B. Schreck. 1980. Stress response to transportation and fitness for marine survival in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37, 765~769.
- Thomas, P. and L. Robertson. 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidate. *Aquaculture*, 96, 69~86.
- Vijayan, M.M. and T.W. Moon. 1992. Acute handling stress alters hepatic glycogen metabolism in food-deprived rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49, 2260~2266.
- Wedemeyer, G.A., B.A. Barton and D.J. McLeay. 1990. Stress and acclimation. In *Methods for Fish Biology*, C.B. Schreck and P.B. Moyle eds. American Fisheries Soc., Bethesda, MD, pp.451~489.

1999년 11월 1일 접수

2000년 3월 6일 수리