

## 양식 스텔릿 철갑상어, *Acipenser ruthenus* 치어의 위 팽창 증후군에 관한 연구

박성우\* · 유진하\*\* · 한정조†

군산대학교 수산생명의학과\*, 농림수산검역검사본부 호남지역본부 수산물 안전과\*\*, 경기도 민물고기 연구소†

### Studies on the overinflation of the Cardiac Stomach in Sterlet Sturgeon *Acipenser ruthenus*, fingerlings

Sung Woo Park\*, Jin Ha Yu\*\* and Jung Jo Han†

Department of Aquatic life Medicine, Kunsan National University, Kunsan, 573-701, Korea

\*Gyeonggi Province Freshwater Fisheries Research Institute, Yangpyoung, 476-841, Korea

\*\*Fishery Products Quality and Safety Division, Honam regional Office, Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Insepection Agency, 96 Munhwa-ro, Gunsan-si, Jeollabuk-do 573-370, Korea

Overinflation of cardiac stomach occurred in farmed sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) fingerlings. Affected fish congregated and swam upside-down near the edges of the tanks with abdominal distension. When pressed the dilated abdomen, the fish often exhibited a normal swimming pattern for some time, then resumed their characteristic upside-down swimming patterns. Internally, the fish showed abdominal dropsy and dilated stomach filled with yellowish granular contents. When the contents in the stomach, fish feed, water and excrement in the farm inoculated on Sabouraud destrose agar (SDA) at 25°C for 48 hr. *Candida* sp. were isolated except from the feed. *Candida* sp. in excrement or water in the farm may enter into the stomach with feed and then produce gases in the metabolic process, which in turn may cause the stomach overinflation.

*Key words* : *Candida* sp., Sturgeon, Overinflation, Stomach

현재까지 총 4속 (*Acipenser*, *Huso*, *Scaphirhynchus*, *Pseudoscaphirhynchus*) 26종으로 분류되어진 철갑상어는 1950년대 구 소련에서 인공종묘생산을 통한 첫 양식이 시작되었고, 미국의 흰철갑상어 (*Acipenser transmontanus*) 양식을 시점으로 본격적인 양식 산업화가 이루어졌다 (Nelson, 1984; Doroshov, 1985). 국내에서는 1996년 섬진강 양어장이 최초로 일본으로부터

베스테르철갑상어 (교잡종, *Huso huso* ♀ + *Acipenser ruthenus* ♂)를 이식받아 양식을 시도하였으며, 2002년에는 경기도민물고기연구소에서 국내 최초로 스텔릿철갑상어 (*A. ruthenus*) 종묘생산에 성공한 사례가 있다. 현재 철갑상어는 국내에서 연간 약 50톤 정도가 생산이 되고 있는데, 주로 고가의 관상용과 횡갑용으로 판매되고 있는 양식대상 신품종 중의 하나로 각광받고 있다 (KOSIS, 2011).

철갑상어 복부팽만에 의한 질병의 대표적 사례로는 대서양철갑상어와 흰철갑상어의 부레팽창증후군

†Corresponding author : Jung Jo Han

Tel : +82-31-8008-6507, Fax : +82-31-773-8359

E-mail : fish119@gg.go.kr

(Hyper-inflated swim bladder syndrome: HISB)이 있다. 주로 치어에 발병되는 HISB의 원인은 현재까지 밝혀지지 않았지만 흰철갑상어의 나선형 장에서 혐기성 세균의 일종인 *Bacteriodes* sp.가 검출됨에 따라 이 세균들이 대사산물 (metabolic waste)으로써 다량의 수소가스 (hydrogen gas)를 발생시켜 부레가 팽창되는 것으로 추정하고 있다. 철갑상어의 부레는 식도와 직접 연결되어 있으며 괄약근에 의해 분리되어있는 구조적 특징 때문에 장내의 혐기성 세균들이 발생시킨 다량의 수소가스나 괄약근의 자극(과민증)에 의해 부레가 과다팽창되는 것으로 여겨진다. 이때 수온을 최소 10°C까지 상승시키게 되면 보통 대략 48시간 안에 증상이 완화되는 경우도 있다 (Jerre, 2003). 한편 Ferguson (1989)는 양식 무지개 송어에 부레가 이상 팽창하여 골격에 이상이 생기는 질병이 발생하는 질병의 원인을 과밀수용 또는 수중 과잉의 CO<sub>2</sub>가 용해되었을 때 또는 사료 중에 pantothenic acid가 결핍하였을 때 발생한다고 하였지만, 그 원인에 관해서는 현재까지도 밝혀지지 않고 있다.

국내에서는 대서양철갑상어와 흰철갑상어의 HISB 증상과는 달리 스틸렛철갑상어에서는 위의 팽창으로 인하여 부레가 위축되는 증상이 지속적으로 발생되고 있다. 양식현장에서는 위 팽창 증상이 지속될 경우 oxytetracycline을 유효성분 40 mg/kg 용량으로 근육에 주사하여 몇 시간 후에 증상을 호전시키기도 한다. 그러나 회복된 개체를 차가운 물에 되돌려 놓으면 다시 증상이 나타나기도 한다. 침강사료보다 부상사료를 급여 시에 위 팽창 증상이 더 많이 발생되기 때문에 초기 사료를 빨리 침강이 되도록 하고 있다. 또한 수온의 급격하게 하강하거나 저 수온상태에서 비가 1주일 이상 지속될 경우 약 1주일 정도 후에 위 팽창 증상이 나타나는 특징을 보이기도 한다.

무지개 송어 및 열목어 등의 연어과 어류의 장속에서 가스를 발생하여 위 팽창을 일으키는 원인체

로 추정되는 *Candida sake*는 찌꺼기나 배설물이 고이기 쉬운 양어지나 효모발효물질을 함유한 배합사료를 급여 시에 빈발하는 특징이 있다. 병어는 위의 팽창 때문에 간을 포함한 주변 장기조직의 압박위축이 발생되고 소화관 또한 위축되는 현상을 나타낸다. 사료에 azalomycin F를 어체중 kg당 100 mg을 경구투여하면 치료되는 수도 있지만 중증일 때는 치료가 불가능하다 (Hatai, 1974).

본 연구에서는 철갑상어의 양식 중에 발생하여 누적 폐사율이 50~90%로 심각한 피해를 일으키는 위 팽창성 질병 (위 팽창증후군)의 원인을 밝히기 위한 일환으로 조사한 결과 병어와 양어지내에서 *Candida* sp.가 분리되어졌기 때문에 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 철갑상어

경기도 민물고기 연구소에서 인공적으로 부화시켜 사육 중인 치어 중에서 복부가 팽만되어 복부를 위로 하고 수면 위에 부상하고 있는 개체 (체장 12~14 cm, 체중 9.8~13.9 g) 10마리를 사용하였다. 발병당시 철갑상어는 1,800 마리/m<sup>2</sup>의 밀도로 사육되고 있었으며 일일 사료급여량은 어체중의 5%이었다. 양식장의 수온 18.5±1°C, DO 6.0±1 mg/L, pH 7.4±0.2, 암모니아 0.46±0.1 mg/L, 아질산 5.0±2 mg/L 농도를 유지하고 있었다.

병어는 내부의 이상을 확인하기 위하여 soft X-ray (Soft Co. LTD, Japan, 28kVp, 100sec 3mA)로 촬영하였다.

### 2. 원인균 분리 및 배양

병어를 MS-222로 마취 (100 ppm)한 다음 개복하여 멸균 면봉으로 위와 부레에서 채취한 내용물을 Sabouraud dextrose gar (SDA) (BD, US)와 brain heart infusion agar (BHIA) (BD, US)에 접종 후 25°C에서 48시

간 동안 배양하였다. 배양 후 lactophenol cotton blue (LPCB)을 한 방울 떨어뜨린 슬라이드 글라스에 SDA에서 발육한 집락을 배급으로 현탁시킨 다음 5분간 방치 후 커버글라스를 덮고 광학현미경(Olympus CH40, Japan)으로 검경하였다. 또 균사체를 확인하기 위하여 Sabouraud dextrose broth (SDB) (BD, US)에 접종하여 25°C에 48시간 동안 배양한 다음 영양 포자의 관찰과 같은 방법으로 균사체의 생성 유무를 조사하였다.

### 3. 사육수, 찌꺼기 및 사료의 배양

발병 사육수와 배출구의 찌꺼기 및 먹이로 사용한 배합사료를 멸균증류수로 단계희석 후 SDA에 접종하여 25°C에 48시간 동안 배양한 다음 발육된 집락을 계수하였다. 사육수는 100 ml와 배출구에서 채취한 찌꺼기와 혼합된 배출수는 10 ml를 0.45 µm로 여과한 다음 membrane filter를 1 ml의 멸균 증류수에 옮겨 분쇄한 다음 단계적으로 희석하였다. 또 찌꺼기는 1,000 rpm에 10분간 원심분리를 실시하여 상층액은 제거하고 습균중량 10 g 에 90 ml의 멸균증류수를 첨가하였으며, 사료는 건중량에 10배량의 멸균증류수를 가한 다음 homogenizer 후 단계 희석하였다. 시료 중의 균수의 경우, 사육수는 ml, 사육수의 찌꺼기는 습균 중량(g), 배합사료는 건중량(g)당의 균수로 나타내었다. 발육한 집락은 슬라이드글라스에 도말하여 LPCB염색 후 형태를 확인한 다음 Barnett *et al.* (2000)의 방법으로 분류를 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 발병 개요 및 증상

병어는 약 30일경부터 먹이섭취가 불량하고 복부가 팽만되어 복부를 위로 한 채 수조의 표면에 부상하여 있다가 다시 수조의 저면으로 가라앉지만, 다시 물 표

면에 떠오르는 등의 이상 유영행동을 보였다. 그러나 외부적으로는 별 다른 증상은 보이지 않았다. 먹이 섭취는 정상어에 비해 불량한 편이었지만 물 표면에 떠 있는 상태에서도 부상사료는 섭취할 수 있는 반면 침강 사료는 섭취가 불가능하였다. 이러한 증상을 나타내는 철갑상어는 난황 흡수 후 1일 동안 *Artemia salina*유생 (nauplius of brine shrimp)을 투여하고 실지렁이(tubifex worms)를 약 2주간 투여하면 3-4 cm 정도 성장하게 되는데, 이때까지는 육안적 이상은 발견할 수 없다 (Figs. 1 & 2B). 그 후 500-800 µm의 송어용 배합사료 투여한 후 일주일 후부터 복부팽만의 증상이 나타나기 시작하여 수조의 표면에 떠오르게 된다(Fig. 2A).

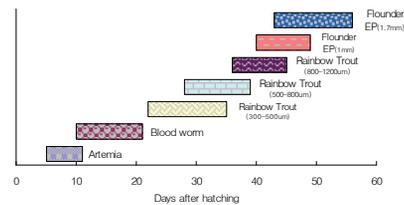


Fig. 1. Schematic feeding schedule for rearing sterlet sturgeon fingerling in the hatchery.

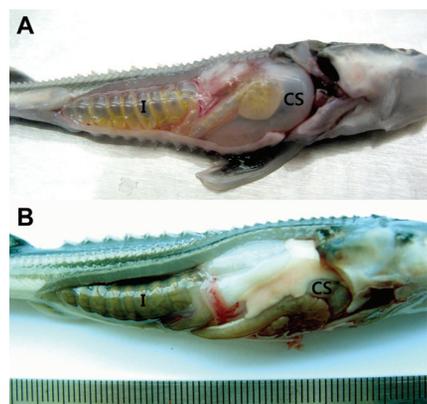


Fig. 2. Diseased (A) and healthy sturgeon (B). Diseased sturgeon with overinflation of the cardiac stomach (CS) showing accumulation of gas bubbles and yellowish granular contents in the stomach and intestine(I).

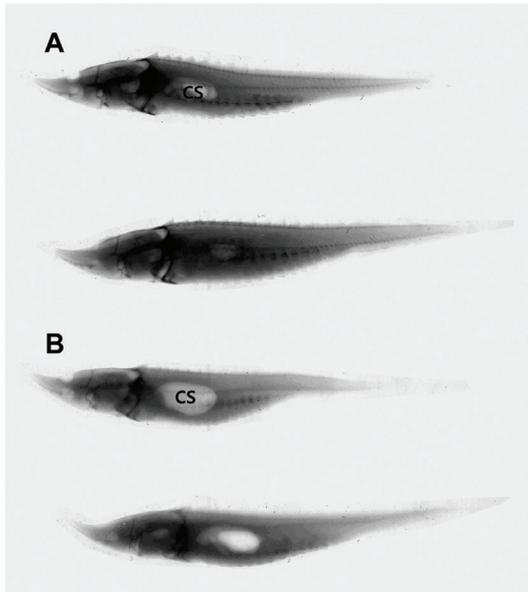


Fig. 3. A reversed radiograph of healthy (A) and diseased (B) sturgeons. The two diseased sturgeons showed overinflation of the cardiac stomach (CS).

병어를 soft X-ray로 촬영한 사진은 분문위 (cardiac stomach)에 가스로 충만하여 심하게 팽창되어 있었다(Fig. 3). 해부 시 위에서부터 소화관에 걸쳐 크고 작은 기포가 형성되어 있었으며, 분문위가 심하게 팽창되었고 때로는 부레도 팽창되어 있는 경우도 있었다(Fig. 2A). 또 장과 분문위에는 황색의 과립상 물질이 가스와 혼재되어 있었으며, 소화된 먹이의 양은 소량에 불과하였다. 복강내에는 투명한 복수가 고여 있는 개체도 발견되었다. 이러한 병어는 소화관 내의 가스가 자연 방출되고 자연 치유되면 수조의 저면으로 내려가지만, 자연 치유되지 못하고 복부 팽만이 오래도록 지속되는 경우에는 등 부위가 아래로 처지는 반면 꼬리 부분이 위로 향하는 척추의 변형이 생기기도 하였다. 또 인위적으로 항문에 주사기를 삽입하거나 복부를 눌러 가스를 제거하면 수조의 바닥으로 가라앉지만, 몇 일후 다시 동일 증상이 재발되었다.

위와 부레의 내용물을 SDS에 접종하여 48시간 배양하였을 때는 직경이 약 1.5-1.8 mm 정도이고 유백색의 광택을 띠는 원형의 용기된 집락이 거의 순수상태로 분리되어졌다. 배양 120시간 후의 집락의 직경은 3.6-4.6 mm 정도로, 집락의 광택은 상실되고 색조도 크림색으로 변하면서 건조해졌다 (Fig. 4). 또 분리된 집락의 수는 위가 부레보다 항상 많았고, 팽만되지 않은 부레에서는 분리되지 않는 경우도 있었다. BHIA에 배양하였을 경우에도 옅은 황색의 정원형, 용기된 광택이 있는 집락이 형성되었지만 세균은 분리되어지지 않았다. SDA에 발육한 집락을 SDB에 배양하여 슬라이드 글라스상의 LPCB에 도말한 다음 현미경으로 검경하였을 때, 분자 포자 (blastospore)를 형성하는 효모의 일종인 *Candida* sp.인 것으로 판명되었다.

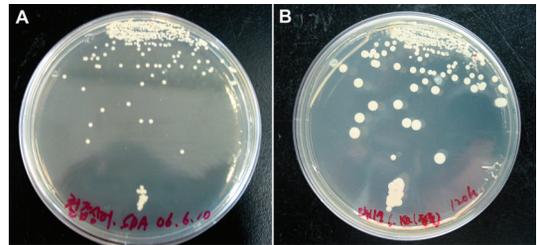


Fig. 4. Cultural appearance of *Candida* sp. from the dilated stomach of sturgeon on Sabouraud dextrose agar for 48 (A) and 120 hrs (B) at 25°C.

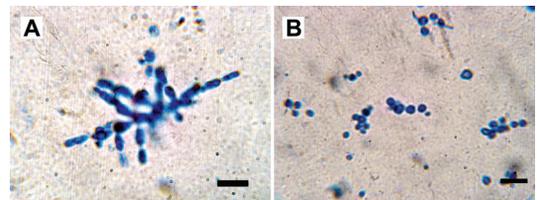


Fig. 5. Pseudohyphae (A) and vegetative forms (B) of *Candida* sp. cultured in Sabouraud dextrose broth and on Sabouraud dextrose agar for 48 hrs at 25°C. The specimen were stained with lactophenol cotton blue. Bars indicate 10  $\mu$ m.

Table 1. Numbers of *Candida* sp. from the water and excrement in the farm and the feeds for the fingerlings

Source	cfu/ml or g
Culturing water	ND***
Effluent water mixed with excrement from farms	$2.1 \times 10^5$
Excrement from the drain of farms	$8.0 \times 10^5$
Feed I*	ND
Feed II**	ND

\*An commercial feed for salmon, sized 500~800  $\mu\text{m}$ , which was fed as a starter feed after hatching. About 1 week after feeding this feed, overinflation of the cardiac stomach in fish occurred.

\*\*An commercial feed for catfish, sized 500~800  $\mu\text{m}$ . The feed was fed after feed I supply.

\*\*\*Not detected.

SDA에 발육한 집락을 SDB에 접종 48시간 배양한 결과, 출아에 의해 증식한 세포가 분리되어지지 않은 채 거의 같은 크기의 원형 및 타원형 또는 신장형의 세포가 연쇄상을 이루는 가성균사 (pseudohyphae)를 형성하였다 (Fig. 5A). 가성균사의 길이 (n=20)는 5.6  $\mu\text{m}$  (4.0-7.3  $\mu\text{m}$ ), 폭은 3.0  $\mu\text{m}$  (2.0-4.1  $\mu\text{m}$ )이었다. 또 SDA에 48시간 배양한 결과 영양세포는 출아방식에 의한 난원형의 분아포자 (n=20)로서 크기는 3.7  $\mu\text{m}$  (2.8-4.9  $\mu\text{m}$ ) x 3.3  $\mu\text{m}$  (2.1-4.3  $\mu\text{m}$ )이었다 (Fig. 4B).

발병 수조의 사육수, 배출구의 찌꺼기 및 사료 중의 *Candida* sp.의 수는 Table 1에 표시한 것처럼 사육수와 사료에서는 검출되지 않았다. 그러나 찌꺼기와 배출수에서는 각각  $8.0 \times 10^5$  cfu/g 과  $2.1 \times 10^5$  cfu/ml 의 *Candida* sp.가 검출되었다.

Hatai and Egusa (1975)는 Amago연어 (*Oncorhynchus rhodurus*)에 *Candida sake*가 감염되면 위는 심한 팽창을 일으켜 괴사되며, chichilids에서는 점막하조직에 육아종이 생기며 점막상피의 괴사 및 탈락이 일어나

는데 이러한 병변 현상은 *Cryptobia* sp.나 포자를 형성하는 *Clostridium* sp.의 감염과 관계가 있다고 보고하였다. Awakura & Kimura (1972)는 *C. sake*에 감염된 산천어 (*Onchorhynchus masou*)치어의 위에는 회갈색의 불투명한 액체로 충만되어 심하게 팽창되고, 이 때문에 간은 심한 압박으로 변형되며 소화관은 위축된다고 하였다. 팽창된 위는 위벽이 매우 얇아져 있으며 탄력성을 상실하여 내부에 부분적인 상피의 염증 반응과 점막이 소실되는 경우도 있다고 하였다. 이러한 질병의 발생은 사료 찌꺼기 (waste food)나 배설물 (excrement)의 축적이 심한 사육지일수록 발생빈도가 높다고 하였다. 한편 Egusa (1992)는 *C. sake*가 위에 들어간다고 해서 반드시 증식한다는 증거는 없지만, 먹이가 배합사료일 경우에는 사료 중의 당을 분해하여 대량으로 번식하여 탄산가스를 생산함으로써 위에 가스가 축적될 수 있다고 하였다. 본 연구에서는 사료에서 *Candida* sp.가 분리되지 않았지만 양어의 잔사와 배설물에서는 분리되어졌기 때문에 발병상황은 산천어의 발병조건과 매우 유사하였다.

그럼으로 양어의 잔사 또는 배설물에서 존재하는 *Candida* sp.가 먹이와 함께 철갑상어의 위내로 혼입된 다음 대사의 결과물인 가스가 발생할 가능성을 충분히 예견할 수 있다. 따라서 위에서 발생된 가스가 식도 (esophagus) 또는 장으로 옮겨질 수 있으며, 또한 기도 (pneumatic duct)를 통해 부레로 유입될 수 있을 것으로 추정된다. 그러나 차널메기 (Pasnik *et al.*, 2003)의 경우처럼 소화관의 뒤틀림에 의해서도 발생할 수 있으며, 무지개송어 (Watanabe *et al.*, 1987; Fairgrieve *et al.*, 1994)처럼 먹이 속에 함유된 히스타민 또는 아민류에 의해서도 발생할 수 있는 가능성을 배제할 수는 없다. 본 연구에서는 소화관의 뒤틀림 현상은 전혀 발견되지 않았기 때문에 사료내의 히스타민 (histamine) 및 아민류 (amine)의 존

재여부 또는 사료에 첨가하여 투여하는 방법 등을 통해 위 팽창증후군의 증상이 재현된다면 원인은 더욱 명확히 할 수 있을 것으로 생각된다.

## 요 약

인공종묘 생산 철갑상어 사육과정에 복부팽만을 특징으로 하는 질병이 발생하였다. 병어는 위와 소화관의 가스의 이상 축적에 의한 것으로 특히, 위의 분문부에서의 가스 축적이 현저하기 때문에 이상 유영을 하다가 폐사하게 된다. 병어의 위, 양어지의 배출수와 잔사에서는 원인체로 추정되는 *Candida* sp.가 검출되었다. 먹이와 함께 섭취된 *Candida*가 대사 과정 중에 발생하는 가스가 위에 축적됨으로서 위가 팽창하게 되고, 일부는 식도와 부레로 이동한 것으로 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 군산대학교 수산과학연구소의 연구비 지원에 의한 대어민 질병 상담업무의 일환으로 수행되었습니다.

## 참고문헌

- Awakura, T. and Kimura T.: A gastric dilatation found in pond-cultured *Oncorhynchus masou*. Fish Pathol., 6: 121-124, 1972.
- Barnett J. A., Payne R. W. and Yarow D.: Yeasts: characteristics and identification, pp. 15-51, 3rd ed., Cambridge University Press, Cambridge, UK. 2000.
- Buddington, R.K. and J.P. Christofferson: Digestive and feeding characteristics of the chondrosteans. Environmental biology of fishes, 14: 31-41, 1985.
- Buddington, R.K.: Digestive secretions of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens* during early development. J. Fish. Biol. 26: 715-723, 1985.
- Doroshov, S.I.: Biology and culture of sturgeon Acipenseriformes. In Recent advances in aquaculture. Edited by J.F. Muir and R.J. Roberts. Westview Press, Boulder, Colorado. pp. 251-274, 1985.
- Egusa, S.: In infectious diseases of fish. pp 417-419, A.A. Balkema Publishers. 1992.
- Fairgrieve, W. T., Meyers, M. S., Hardy, R. W., and Dong, F. M. : Gastric abnormalities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed amine-supplemented diets or gizzard-erosion-positive fish meal. Aquaculture, 127: 219-232, 1994.
- Ferguson, H. W.: Gastrointestinal tract, pancreas, and swim bladder. In systemic pathology of fish. Iowa State University Press. pp 125-145, 1989.
- Hatai, K. and Egusa, S.: *Candida sake* from gastro-tympanites of Amago, *Oncorhynchus rhodurus*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 41: 993, 1975.
- Hatai, H., Nakajima, K. and Nishide, A.: Studies on the effective antifungal substance on the overinflation stomach in cultured trout species. Fish Pathol., 8:171-174, 1974.
- Jerre W. Mohler: Culture manual for the Atlantic sturgeon. pp 52-53, A Region 5 U.S Fish & Wildlife Service Publication, 2003.
- KOSIS. Statistic Database for Sturgeon Production. Retrieved from <http://kosis.kr> on December 1. 2011.
- Nelson, J.S. Fishes of the world. 2nd edition. 523 p. John Wiley & Sons, Inc., New York. 1984.

Pasnik, D. J., Khoo, L., and Gaunt, P. S.: Gastrointestinal torsion in a channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Wild. Dis., 39: 238-240, 2003.

Staurnes, M., Andrordottir, G., and Sundby, A.: Distended, water filled stomach in sea-farmed rainbow trout. Aquaculture. 90: 333-343, 1990.

Watanabe, T., Takeuchi, T., Satoh, S., Toyama K., and Okuzumi, M.: Effect of histidine or histamine on

growth and development of stomach erosion in rainbow trout. Nippon Suisan Gakkaishi. 53: 1207-1214, 1987.

---

Manuscript Received : January 9, 2012

Revised : April 4, 2012

Accepted : April 5, 2012