

조피볼락(*Sebastes schlegeli*)의 장거리 수송을 위한 적정 수온 및 염분 조건 탐색

양성진 · 이정용 · 전제천 · 명정인 · 민병화*

국립수산과학원 전략양식부 양식관리과

Investigation of Suitable Temperature and Salinity Ranges for Long-distance Transport of the Rockfish *Sebastes schlegeli*

Sung Jin Yang, Jeong Young Lee, Je-Cheon Jun, Jeong-In Myeong and Byung Hwa Min*

Aquaculture Management Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea

The optimum temperature and salinity for long-distance transportation of rockfish *Sebastes schlegeli* were investigated by assessing hematological characteristics and hemocyte mortality. The possible effects of the interaction of temperature and salinity on these attributes were also investigated. No significant difference was found in hematocrit and hemoglobin among experimental conditions. Glucose levels were highest in fish exposed to salinities of 34 psu (4°C), 18 psu (4-6°C) and 10 psu (4-8°C). Cortisol levels were elevated in the lowest temperature group (4°C), but upper limits decreased with decreasing salinity. AST and ALT increased as temperature decreased at salinities lower than 26 psu. The ratio of living cells was 99.0–99.6% in all experimental groups. The percentage of necrotic cells was highest in fish exposed to salinities of 34 psu (4°C), 18 psu (6-8°C), and 10 psu (4-8°C). The percentage of necrotic cells decreased significantly as temperature and salinity decreased, indicating that both salinity and the interaction of salinity and temperature affected cell necrosis.

Key words: *Sebastes schlegeli*, Temperature, Salinity, Blood characteristics, Apoptosis

서론

최근 육류의 소비는 점차 줄어드는 반면 수산물의 소비는 계속 증가하고 있으며(FAO, 2015), 특히, 우리나라와 일본 중심이었던 활어 소비문화가 전 세계적으로 확대되어 국가 간의 활어 교역량 또한 증가할 전망이다. 기존의 활어 수송 방법은 활어차를 이용한 운송법과 항공기를 이용한 항공 수송법이 사용되어 왔다(Piper et al., 1982; Davis and Parker, 1986). 하지만 활어차를 이용한 수송은 운반 가능 시간이 짧아 거리상 가까운 일본 외 수송 시간이 24시간 이상 걸리는 먼 거리로의 수송이 불가능하다. 따라서 현재까지 장거리 수송은 넓치만을 소량 미국으로 항공 운송하고 있다.

하지만 이러한 항공 운송은 신속하다는 장점이 있으나 운송비가 비싸며 수송 품종이 다양하지 못하다는 문제가 있다(Piper et al., 1982; Berka, 1986). 이러한 단점을 극복하고자 현재까지 많은 수송관련 연구가 이루어졌고(Ferreira et al., 1984; Yo-

shikawa et al., 1989; Cho et al., 1994), 이중 수온을 저하시켜 운반하는 저온 수송법이 가장 효과적이지만 냉각수조, 산소발생기 및 여과기 등의 기계 장치 개발 미흡으로 인해 그 동안 상용화 되지 못했다. 하지만 현재 기술적인 부분이 해결되어 2012년 활어 저온 수송이 가능한 수송용 컨테이너가 개발된 상태이다(MOF, 2014). 그러나 수송생물의 생리대사 특성을 고려하지 못한 장시간의 활어 수송은 극심한 스트레스 요인으로 작용하여 건강도 하락으로 인해 상품의 가치를 떨어뜨리거나 폐사를 유발하므로, 안정적인 활어패 수송을 위해서는 적정 수온·염분 등의 수송조건의 탐색이 선행되어야 한다(Wedemeyer, 1996; Harmon, 2009).

조피볼락(*Sebastes schlegeli*)은 2014년 생산량이 약 24,598톤으로 전체 어류양식 생산량의 29% 정도를 차지하는 우리나라 대표 양식 어종이다(MOF, 2015). 하지만 양식장 증가 및 생산 기술 발달로 인해 국내 소비량에 비해 과잉 생산되고 있어 새로운 해외 시장 개척과 확대가 절실한 실정이다. 따라서 본 연구

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2017.0025>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 50(1) 025-031, February 2017

Received 26 September 2016; Revised 25 October 2016; Accepted 19 December 2016

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 720. 214 Fax: +82. 51. 720. 2439

E-mail address: pkmbh@korea.kr

는 조피볼락의 장거리 수송을 위한 기초 생물학적 자료를 확보하기 위하여 적정 수온 및 염분을 구명하고자 이를 위해 각 요인에 대한 혈액 성상과 혈구 사멸률 조사를 통해 스트레스 반응과 건강도를 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

실험어 및 조건

실험을 위하여 조피볼락(전장 28.6 ± 1.8 cm, 전중 409.0 ± 70.4 g)을 경남 거제에 소재한 양식장에서 구입하여 국립수산물품질관리원 사육실로 옮긴 후, 유수식 원형 FRP 수조(2톤)에서 14일간 적응시켰다. 적응기간 동안 수온은 $15 \pm 1^\circ\text{C}$ 염분은 33.5 ± 0.5 psu였으며, 배합사료를 매일 2회 반복 공급하였다.

적정 수송 조건을 탐색하기 위해 수온 4조건(4, 6, 8, 10°C) 및 염분 3조건(10, 18, 34 psu)을 교차하여 총 12 조건에서 실험을 하였다. 냉각기가 설치된 순환여과식 아크릴수조(200 L) 12개에 실험 조건 별로 14일간 순치시킨 조피볼락을 각각 15마리씩 수용한 뒤 실험 수온으로 도달시켰다. 실험기간은 국내에서 미국 로스엔젤레스까지 활컨테이너를 이용하여 활어를 수송하는 시간을 감안하여 14일로 설정하였으며, 실험 종료 시 각 조건 별로 실험어의 혈액성상과 혈구개체군 및 혈구 사멸률을 조사하였다. 실험기간 동안 광주기는 12L:12D, 용존산소는 포화농도의 90% 이상으로 유지하였다. 매일 폐사어를 확인하여 생존율을 조사하였으며, 실험기간 동안 모든 실험어는 100% 생존하였다.

혈액 채취

실험 종료 시(14일째) 각 실험수조에서 모든 실험어를 잡아 150 ppm의 2-phenoxyethanol (Junsei, Japan)로 마취시킨 후, heparin sodium을 처리한 주사기로 미부혈관에서 채혈하였다. 채혈된 혈액의 일부는 hematocrit (Ht), hemoglobin (Hb) 측정 및 혈구 사멸률 조사를 위해 즉시 분석에 사용하였으며, 나머지는 원심분리(14,000 g, 4°C , 10 분) 후 혈장을 분석 전까지 -80°C 에 보관하였다.

혈액 성분 분석

Ht는 혈액을 모세유리관에 넣어 원심분리(10,000 g, 10분)하여 Ht 측정판(MICRO-HAEMATOCRIT READER, Hawksley Co, UK)으로 측정하였다. Hb, glucose, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT)는 건식임상화학자동분석장치(FUJI DRI-CHEM 4000i, Japan)를 이용하여 측정하였다.

혈중 cortisol은 효소면역분석법(enzyme immunoassay, EIA)을 이용한 cortisol EIA kit (Oxford, USA)를 사용하여 다음과 같이 측정하였다. 혈장 100 μL 에 1 mL ethyl ether를 첨가하여 cortisol을 추출한 후, 시료의 상층액을 분리하여 이를 N_2 가스

로 증발시켰다. 잔여물을 100 μL 의 extraction buffer에 녹인 후 다시 extraction buffer로 100배 희석시켜 이를 샘플로 사용하였다. Standard solution 또는 샘플을 50 μL 씩 microplate에 2반복으로 넣은 후, 동량의 Cortisol-HRP Conjugate를 첨가하여 1시간 동안 상온에서 반응시켰다. 반응 후 washing buffer로 3회 세척한 후, Tetramethyl benzidine (TMB) substrate를 150 μL 씩 넣은 후 30분 동안 반응시켜, microplate reader (Bio-Tek, USA)로 650 nm에서 값을 측정하였다. Cortisol 분석 시 Inter-assay coefficients of variation (CV) 및 Intra-assay CV는 각각 7.1%와 5.5%이었다.

유세포 분석

혈구 사멸률은 PE Annexin V Apoptosis Detection Kit (BD Pharmingen™, USA)를 사용하여 혈구를 PE Annexin V와 7-Amino-Actinomycin (7-AAD)로 이중염색을 하여 측정하였다. 혈구수가 10^6 - 10^7 cells/mL로 유지하기 위해 혈액을 binding buffer로 희석시킨 후 희석한 혈액 100 μL 에 PE Annexin V와 7-AAD를 각각 5 μL 씩 첨가한 후 암실에서 실온으로 15분간 반응 시켰다. 이후 binding buffer (0.1 M HEPES/NaOH (pH 7.4), 1.4 M NaCl, 25 mM CaCl_2) 400 μL 를 첨가한 다음, 유세포분석기(Galios flow cytometry, Beckman Coulter, USA)로 1시간 이내에 분석하였다. 혈구들은 염색 유무에 따라 live cells (염색 반응 없음), apoptotic cells (Annexin V 염색), necrotic cells (7-AAD 염색)로 분류하였다(Fig. 1).

통계처리

실험의 결과값은 평균±표준편차로 나타내었으며, 실험구간 유의성($P < 0.05$)은 SPSS program (Ver. 17.0)을 사용하여 One-way ANOVA test 또는 Two-way ANOVA test와 Duncan test로 검증하였다.

결 과

혈액 parameter 변화

Ht와 Hb는 실험 종료 시 수온 및 염분에 따른 유의한 변화가

Table 1. *P*-values from two-way ANOVAs of blood parameters in rockfish *Sebastes schlegeli* exposed across various temperatures (4, 6, 8, 10°C) and salinities (10, 18, 34 psu) on 14 days

Parameters	Salinity (psu)	Temperature ($^\circ\text{C}$)	Salinity×Temperature
Hematocrit	0.065	0.124	0.136
Hemoglobin	0.295	0.125	0.221
AST	<0.001	<0.001	<0.001
ALT	0.006	0.001	<0.001
Glucose	0.001	<0.001	0.005
Cortisol	<0.001	<0.001	<0.001

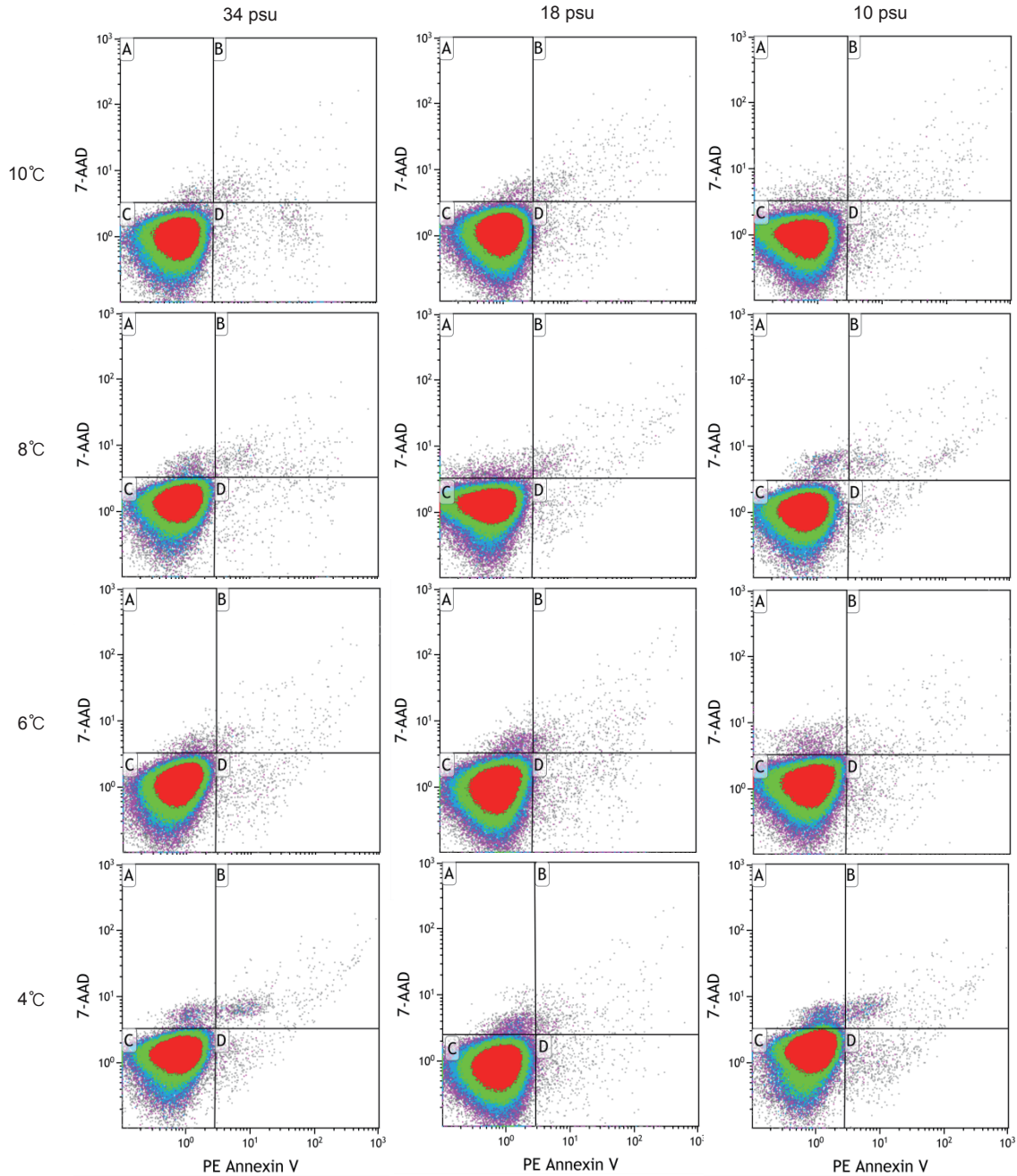


Fig. 1. Flow cytometric determination of live cell, apoptotic cell and necrotic cell in the hemocyte populations of rockfish *Sebastes schlegeli* exposed across various temperatures (4, 6, 8, 10°C) and salinities (10, 18, 34 psu) on 14 days. A, necrosis; B, late apoptosis; C, live; D, early apoptosis ($n=15$).

나타나지 않았다(Fig. 2, Table 1).

Cortisol은 실험 종료 시 모든 염분구에서 4°C에서 가장 높았으며(Fig. 3), 염분이 낮아질수록 유의하게 감소하여 수온, 염분 및 수온×염분 상호작용에 영향을 받는 것으로 나타났다(Table 1). Glucose는 실험 종료 시 34 psu에서는 4°C, 18 psu에서는

6°C 그리고 10 psu에서는 8°C부터 유의하게 증가하였다(Fig 3). Glucose는 수온, 염분 및 수온×염분 상호작용에 영향을 받는 것으로 나타났다(Table 1).

AST는 실험 종료 시 34 psu 염분구에서는 수온간 유의한 차이가 없었으나, 10, 18 psu에서는 4°C일 때 가장 높게 나타났

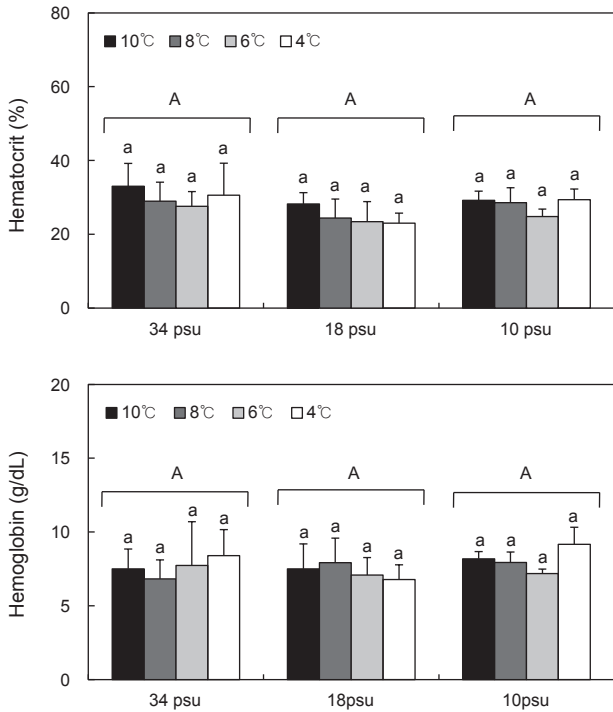


Fig. 2. Levels of hematocrit and hemoglobin in rockfish *Sebastes schlegeli* exposed across various temperatures (4, 6, 8, 10°C) and salinities (10, 18, 34 psu) at 14 days. Means±S.D. Same capital letters mean not significant difference between salinity and small letters between temperature ($P>0.05$).

다(Fig. 4). AST는 수온, 염분 및 수온×염분 상호작용에 영향을 받는 것으로 나타났다(Table 1). ALT는 실험 종료 시 10 psu 4°C일 때 가장 높게 나타났으며(Fig. 4), 수온과 염분 및 수온×염분 상호작용에 영향을 받는 것으로 나타났다(Table 1).

혈구 사멸률 변화

실험 종료 시 수온과 염분에 따른 혈구 사멸률은 Table 2에 나타내었다. Live cell은 모든 실험구에서 99.0-99.6% 범위로 실험구간의 유의한 차이는 나타나지 않았다. Apoptotic cell은 모든 실험구에서 유의한 차이가 없었다. Necrotic cell은 34 psu에서는 4°C, 18 psu에서는 8°C와 6°C, 10 psu에서는 6°C와 4°C에서 가장 높게 나타나 수온 및 수온×염분 상호작용에 영향을 받는 것으로 나타났다.

고 찰

Ht, Hb, glucose, AST, cortisol 등의 혈액 성분은 어류의 건강도 지표로 사용 된다(Davis and Parker, 1990). Ht와 Hb는 산소 운반능력을 나타내는 생리 활성의 지표로써 스트레스를 받으면 증가하거나 감소한다(Davis and Parker, 1990). Adeyemo

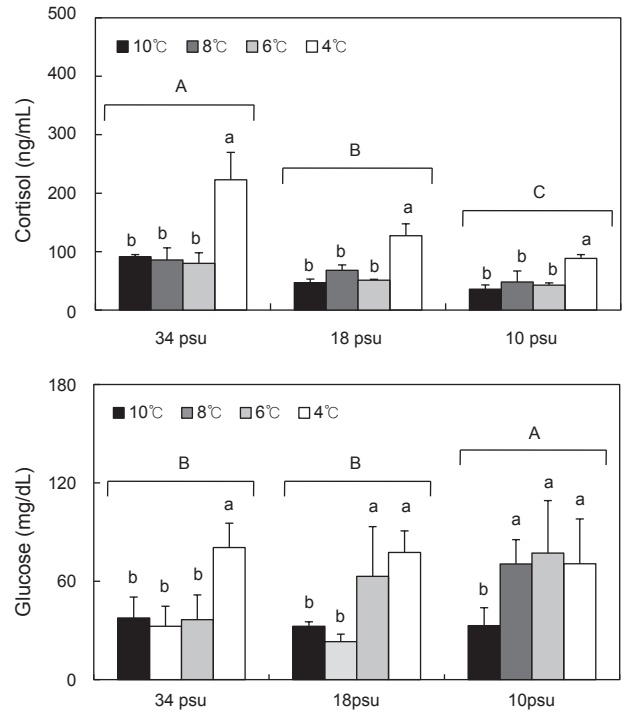


Fig. 3. Levels of cortisol and glucose in rockfish *Sebastes schlegeli* exposed across various temperatures (4, 6, 8, 10°C) and salinities (10, 18, 34 psu) on 14 days. Means±S.D. Different capital letters indicate significant difference between salinity and small letters between temperature ($P<0.05$).

et al. (2003)은 African catfish (*Clarias gariepinus*)의 경우 수온이 낮아질수록 Ht가 감소한다고 하였다. 본 연구에서 모든 실험구에서 Ht와 Hb의 유의한 차이가 나타나지 않아 10-18 psu와 4-10°C의 조건은 조피볼락의 Ht와 Hb에는 영향을 미치지 않는 것으로 여겨진다. Cortisol과 glucose는 어류의 스트레스 지표로서 사용되며, 스트레스를 받으면 혈중 농도가 증가한다(Thomas and Robertson, 1991; Van Raaij et al., 1996).

본 연구결과 cortisol 농도는 모든 염분구에서 4°C일 때 가장 높게 나타나 glucose와 유사하였고, 4°C 이하의 수온은 조피볼락에게 스트레스를 주는 것으로 여겨진다. 한편, cortisol은 해수 적응 호르몬으로 알려져 있지만(McCormick, 2001), 담수적응 시 아가미의 염류세포를 조절하는 역할도 함께 하므로(Laurent and Perry, 1990) 염분이 낮아질 경우 일반적으로 혈중 농도가 증가한다. 하지만 본 연구에서 cortisol 농도는 염분이 낮아질수록 유의하게 감소하였다. 이에 대해 Marshall et al. (1999)은 염분 차에 의한 삼투조절작용에 cortisol이 계속 사용되어 저염분 일수록 혈중 cortisol 농도가 낮아진다고 하였다. 다른 예로 승어(*Mugil cephalus*)의 경우 33 psu에서 0 psu로 옮겼을 경우 cortisol 농도가 급격히 낮아졌으며(Chang and Hur, 1999), 기수에 적응된 killifish (*Fundulus grandis*)를 담수로 옮겼을 때

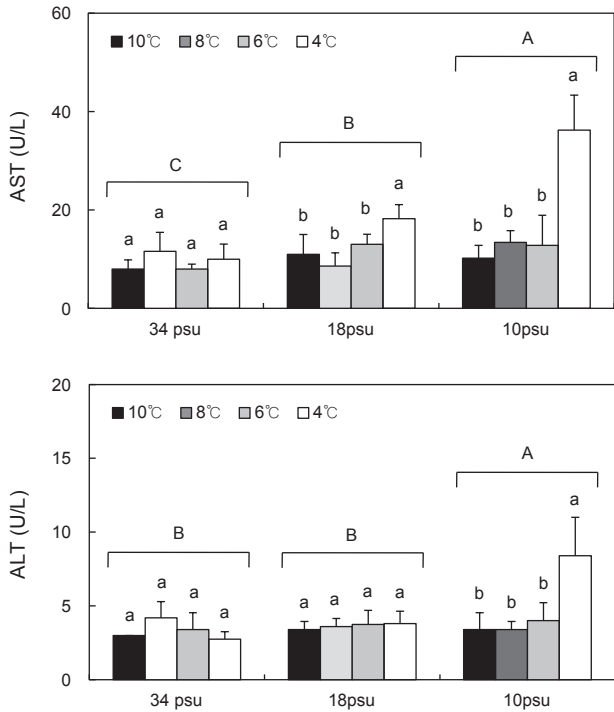


Fig. 4. Levels of AST and ALT in rockfish *Sebastes schlegeli* exposed across various temperatures (4, 6, 8, 10°C) and salinities (10, 18, 34 psu) on 14 days. Means±S.D. Different capital letters indicate significant difference between salinity and small letters between temperature ($P<0.05$).

혈장 cortisol이 감소한다고 보고된 바 있다(Scott et al., 2006).

또한 Marley et al. (2008)은 cortisol과 반대의 역할을 하는 담수 적응 호르몬인 prolactin은 혈중 cortisol의 농도에 영향을 준다고 하였다. 본 연구에서 prolactin은 측정하지 않았지만 염분이 낮아질수록 cortisol 농도가 유의하게 감소하는 것은 시간에 따라 cortisol을 대신해 prolactin 분비가 증가하였기 때문으로도 추측된다.

실험 종료 시 glucose농도는 34 psu에서는 가장 낮은 수온인 4°C일 때 가장 높게 나타나 수온 급강하시 넙치의 glucose변화와 유사하게 나타났다(Chang et al., 1999). 또한, 18 psu에서는 4-6°C, 10 psu에서는 4-8°C일 때 가장 높게 나타나 저염분과 저수온의 복합작용이 뚜렷이 나타났다.

혈장 효소인 AST와 ALT는 간 건강 지표로 사용되며, 간 손상 시 혈중으로 다량 유출되어 농도가 상승한다(Smith and Ramos 1980). 본 연구에서 AST는 10, 18 psu에서 4°C일 때 가장 높게 나타났다. ALT는 10 psu에서 4°C일 때 가장 높게 나타났다. 따라서 10, 18 psu의 염분과 4°C의 수온에서는 간기능이 저하되며, 또한 저염분과 저수온이 복합적으로 작용할 경우 더 많은 스트레스를 받는 것으로 나타났다.

어류가 수송 하루 혹은 일주일 이후에 폐사하는 현상을 de-

Table 2. Percentage of live cell, apoptotic cell and necrotic cell in the hemocyte populations of rockfish *Sebastes schlegeli* exposed across various temperatures (4, 6, 8, 10°C) and salinities (10, 18, 34 psu) on 14 days

	Temperature (°C)	Live cell (%)	Apoptotic cell (%)	Necrotic cell (%)
34 psu	10	99.0±0.3 ^a	0.55±0.19 ^a	0.21±0.07 ^{ab}
	8	99.5±0.1 ^a	0.38±0.05 ^a	0.17±0.04 ^b
	6	99.4±0.1 ^a	0.34±0.02 ^a	0.25±0.03 ^{ab}
	4	99.3±0.1 ^a	0.39±0.09 ^a	0.29±0.03 ^a
18 psu	10	99.6±0.1 ^a	0.29±0.11 ^a	0.15±0.09 ^b
	8	99.1±0.2 ^a	0.53±0.17 ^a	0.30±0.12 ^a
	6	99.3±0.1 ^a	0.46±0.17 ^a	0.29±0.04 ^a
	4	99.5±0.2 ^a	0.38±0.19 ^a	0.13±0.04 ^b
10 psu	10	99.5±0.1 ^a	0.35±0.04 ^a	0.16±0.04 ^b
	8	99.3±0.3 ^a	0.30±0.07 ^a	0.32±0.09 ^a
	6	99.2±0.1 ^a	0.39±0.10 ^a	0.31±0.05 ^a
	4	99.4±0.1 ^a	0.29±0.02 ^a	0.30±0.05 ^a
<i>P</i> -value from two-way ANOVAs				
Salinity		0.453	0.166	0.148
Temperature		0.448	0.788	0.009
Salinity×Temperature		0.061	0.097	0.001

Different small letters indicate significant difference between temperatures ($P<0.05$).

layed mortality syndrome이라 한다(Harmon, 2009). 이에 대한 원인은 아직까지 명확하게 밝혀지지 않았지만, Portz et al. (2006)는 수송 시 받은 스트레스로 인한 면역기능의 저하를 원인 중 하나로 보고한 바 있다.

세포 사멸은 크게 apoptosis (세포자살)과 necrosis (괴사)로 구분된다. Apoptosis는 p53, Bcl2/Bax, cytochrome c, caspase family protein 등과 같은 apoptosis-related molecule에 의해 이루어지는 능동적인 세포 사멸과정을 말한다. 반면 necrosis는 독성 및 외부환경의 변화에 따른 물리적인 충격에 의해 세포가 터져 죽게 되면서 염증을 동반 하는 것을 말하며, 이러한 세포 사멸은 외부 스트레스나 질병에 의해 촉진되므로 어류의 경우에 면역력 평가 지표로 사용이 가능하다(Kiss, 2010; Ray et al., 2013; Cheng et al., 2015).

복어(*Takifugu obscurus*)의 경우 34°C의 고온에서는 3시간째부터 apoptotic cell 비율이 적정 서식 수온인 24°C에 비해 유의하게 높아졌으며, 48시간째 12.23%까지 증가하여 수온 스트레스를 받을 경우 혈구의 apoptosis 비율이 증가하였다(Cheng et al., 2015). 또한 잉어의 경우 *Trypanoplasma borreli*에 감염되어 면역력이 낮아졌을 때, 혈구의 apoptosis와 necrosis 비율이 높아진다고 보고된 바 있다(Fink et al., 2015). 본 연구에서 apoptotic cell은 실험기간 유의한 차이가 없었으나, necrotic

cell은 10 psu 에서는 8℃ 이하부터 유의하게 높아졌다.

따라서 본 연구결과를 종합해봤을 때 스트레스 지표인 cortisol, glucose, AST 및 ALT는 4℃, 10 psu에서 가장 높게 나타났으며, 또한 혈구 사멸률과 같은 면역 지표를 비교했을 때도 18-34 psu, 6-10℃에서 10 psu, 4℃보다 스트레스를 적게 받는 것으로 나타나 조피볼락의 장거리 수송 적정 수온 및 염분 조건은 6-10℃, 18-34 psu인 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 국립수산물과학원 수산과학연구사업(R2017008)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

- Adeyemo OK, Agbede SA, Olaniyan AO and Shoaga OA. 2003. The haematological response of *Clarias gariepinus* to changes in acclimation temperature. African J Biomed Res 6, 105-108.
- Berka R. 1986. The transport of live fish. A review. EIFAC Technical Report, 48, FAO, Rome, pp. 52.
- Chang YJ and Hur JW. 1999. Physiological Responses of Grey Mullet (*Mugil cephalus*) and Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by Rapid Changes in Salinity of Rearing Water. J Korean Fish Soc 32, 310-316.
- Chang YJ, Park MR, Kang DY and Lee BK. 1999. Physiological Responses of Cultured Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) on Series of Lowering Seawater Temperature Sharply and Continuously. J Korean Fish Soc 32, 601-606.
- Cheng CH, Yang FF, Liao SA, Miao YT, Ye CX, Wang AL, Tan JW and Chen XY. 2015. High temperature induces apoptosis and oxidative stress in pufferfish (*Takifugu obscurus*) blood cells. J Therm Biol 53, 172-179. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtherbio.2015.08.002>.
- Cho YJ, Kim YY, Lee NG and Choi YJ. 1994. Basic studies on developing equipment for waterless transportation of live fish. Bull Korean Fish Soc 27, 501-508.
- Davis KB and Parker NC. 1986. Plasma corticosteroid stress response of fourteen species of warmwater fish to transportation. Trans American Fish Soc 115, 495-499. [http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659\(1986\)115<495:PCSR0F>2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659(1986)115<495:PCSR0F>2.0.CO;2).
- Davis KB and Parker NC. 1990. Physiological stress in striped bass: Effect of acclimation temperature. Aquaculture 91, 349-358. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90199-W](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(90)90199-W).
- FAO. 2015. Food outlook: Biannual report on global food markets. pp. 1-142.
- Ferreira J, Schoonbee T and Smith GL. 1984. The use of benzocainehydrochloride as an aid in the transport of fish. Aquaculture 42, 169-174. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90364-8](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(84)90364-8).
- Fink IR, Carla Ribeiro MS, Forlenza M, Taverner-Thiele A, Jan Rombout HWM, Huub Savelkoul FJ and Greert Wiegertjes F. 2015. Immune-relevant thrombocytes of common carp undergo parasite-induced nitric oxide-mediated apoptosis. Develop Comp Immunol 50, 146-154. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dci.2015.02.008>.
- Harmon TS. 2009. Methods for reducing stressors and maintain water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. Rev Aquacult 1, 58-66. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-5131.2008.01003.x>.
- Kiss T. 2010. Apoptosis and its functional significance in molluscs. Apoptosis 15, 313-321. <http://dx.doi.org/10.1007/s10495-009-0446-3>.
- Laurent P and Perry SF. 1990. Effects of cortisol on gill chloride cell morphology and ionic uptake in freshwater trout, *Salmo gairdneri*. Cell Tissue Res 259, 429-442. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01740769>.
- Marley R, Lu W, Balment RJ and McCrohan CR. 2008. Cortisol and prolactin modulation of caudal neurosecretory system activity in the euryhaline flounder *Platichthys flesus*. Comp Biochem Physiol Part A: Molec Integr Physiol 151, 71-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.05.180>.
- Marshall WS, Emberley TR, Singer TD, Bryson SE and McCormick SD. 1999. Time course of salinity adaptation euryhaline estuarine teleost, *Fundulus heteroclitus*: A multivariable approach. J Exp Biol 202, 1535-1544.
- McCormick SD. 2001. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. Am Zool 41, 781-794. <http://dx.doi.org/10.1093/icb/41.4.781>.
- MOF (Ministry of Oceans and Fisheries). 2014. Development of the transport system of live fish for export. Ministry of Oceans and Fisheries, Sejong, Korea.
- MOF (Ministry of Oceans and Fisheries). 2015. Statistic Database for Fishery Production Survey. Retrieved from <http://stat.mof.go.kr/portal/cate/partStat.do>. on 2015.
- Piper RG, McElwain IB, Orme LE, McCraren, JP, Fowler LG and Leonard JR. 1982. Fish hatchery management. U.S. Fish and Wildlife service, washington DC. USA, 517.
- Portz DE, Woodley CM and Cech JJ Jr. 2006. Stress-associated impacts of short-term holding on fishes. Rev Fish Biol Fish 16, 125-170. <http://dx.doi.org/10.1007/s11160-006-9012-z>.
- Ray M, Bhunia AS, Bhunia NS and Ray S. 2013. Density shift, morphological damage, Lysosomal fragility and apoptosis of hemocytes of Indian molluscs exposed to pyrethroid pesticides. Fish Shellfish Immunol 35, 499-512. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2013.05.008>.
- Scott GR, Schulte PM and Wood CM. 2006. Plasticity of osmoregulatory function in killifish intestine; drinking rates, salt and water transport and gene expression after freshwater transfer. J Exp Biol 209, 4040-4050. <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.02462>.
- Smith AC and F Ramos. 1980. Automated chemical analysis

- in fish health assessment. J Fish Biol 17, 445-450. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb02777.x>.
- Thomas P and Robertson L. 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. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90140-3](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(91)90140-3).
- Van Raaij MTM, Van den Thillart GEEJM, Vianen GJ, Pit DSS, Balm, PHM and Steffens AB. 1996. Substrate mobilization and hormonal changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* L.) and common carp (*Cyprinus carpio* L.) during deep hypoxia and subsequent recovery. J Comp Physiol 166, 443-452. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02337889>.
- Wedemeyer GA. 1996. Transportation and handling. In: Pennel W, Barton B. (Eds), Principles of Salmonid Culture. Developments in aquaculture and fisheries science, Elsevier, Amsterdam, Netherlands. 727-758.
- Yoshikawa H, Ueno S and Mitsuda H. 1989. Short and long term cold-anesthesia in Carp. Nippon Suisan Gakkaishi 55, 491-498. <http://doi.org/10.2331/suisan.55.491>.