

활어 수송용 컨테이너에 수용된 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)의 생존율, 혈액성상, 혈구 사멸률 및 조직학적 변화

양성진 · 전제천 · 민병화¹ · 박노백 · 강희웅*

국립수산과학원 양식관리과, ¹동해수산연구소 양식산업과

Survival, Hematological Characteristics, Hemocyte Mortality and Histological Changes of Korean Rockfish *Sebastes schlegeli* Held in Live Fish Containers

Sung Jin Yang, Je-Cheon Jun, Byung Hwa Min¹, Noh Back Park and Hee Woong Kang*

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

¹Aquaculture Industry Research Division, East Sea Fisheries Research Institute, Gangneung 25435, Korea

This study investigated the survival rates and physiological responses of Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*, in live fish containers (8 °C, 33 psu) for 18 days. The survival rate was 99% and 97% in the control and experimental groups, respectively. Hematocrit and hemoglobin did not differ significantly between the control and experimental groups. Glucose and cortisol rose immediately on the first day of containment, but both gradually normalized. Aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase did not differ significantly between the two groups after recovery. NH₃ continued to rise after the first day, but decreased to a level not significantly different from that of the control group during the recovery period. Plasma ions and osmolality did not change abnormally. The hemocyte population was not significantly different from that of the control. The ratios of apoptotic and necrotic cells indicated no specific variation in hemocyte viability. The histological changes in the skin and gills were not significantly different from those seen in the control. The experimental data obtained in this study suggest that live fish containers may be used to transport Korean rockfish without significantly affecting their physiology or survival.

Key words: Rockfish, *Sebastes schlegeli*, Live fish container, Survival, Stress response

서 론

조피볼락(*Sebastes schlegeli*)의 2017년 양식 생산량은 22,345 톤으로 우리나라 어류 양식 생산량의 25% 정도를 차지하는 주요 양식 어종이다(MOF, 2017). 그러나 조피볼락은 종자생산 및 양식 기술 발달로 국내 소비량을 넘어선 과잉 공급이 우려되고 있다(Yoon et al., 2015). 따라서 안정적인 조피볼락 소비 및 양식 경쟁력 확보를 위해서는 새로운 해외 시장 개척과 확대가 절실한 실정이다. 최근 활어(live fish) 소비 문화가 전세계적으로 확대되어 활어소비가 증가되고 있다. 현재까지 활수산물의 단거리 수송은 활어차에 수산물과 물을 15:85의 비율로 수용하여 육상으로 수송하고 있으며, 장거리 수송은 비행기로 소량씩 운반하는 실정이다(Berka, 1986; Yang et al., 2015). 우리나라

는 육상을 통한 수송으로는 해외에 수출할 수 없으며, 항공수송은 비용이 높아 경제성이 떨어지는 단점이 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해 활어 수송 방법 개선에 관련한 연구가 꾸준히 수행되어왔다(Ferreira et al., 1984; Yoshikawa et al., 1989; Cho et al., 1994). 이중 운반수의 수온을 낮춰 활수산물의 대사율을 저하시켜 운반하는 수송법이 장시간 수송에는 가장 효과적으로 나타났다. 또한 해외 수출에 주로 사용되는 컨테이너를 이용한 해상 수송 방법이 대량 수송에 경제적이어서 현재 활어 저온 수송용 컨테이너(활어수송 컨테이너)가 주로 사용된다.

저온 수송은 생물의 대사를 감소시킨다는 장점이 있지만 저온에 대한 내성 범위는 어종마다 다르다. 어종에 따른 적정 수송 수온은 Channel catfish (*Ictalurus punctatus*)는 7.7-10 °C (Piper et al., 1982), 잡종 배스(*Morone chrysops* × *Morone*

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0411>



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 51(4) 411-419, August 2018

Received 5 June 2018; Revised 21 June 2018; Accepted 16 July 2018

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 720. 2140 Fax: +82. 51. 720. 2419

E-mail address: hwwang@korea.kr

saxatilis)는 18.3°C 이하(Yeager et al., 1990), 줄농어(*M. saxatilis*)는 12.8-18.3°C (Piper et al., 1982), 큰입 배스(*Micropterus salmoides*)는 16°C (Carmichael et al., 1984)로 나타났다. 조피볼락의 경우도 수송을 위한 장거리 수송 적정 조건에 대한 연구가 진행되어 수송기간 14일 기준으로 적정 수송 수온은 6-10°C, 염분은 18-34 psu으로 나타났다(Yang et al., 2016; Yang et al., 2017). 하지만 실험적으로 구명된 수송 조건이 조피볼락의 장거리 수송에 적합한지를 최종적으로 판단하기 위해서는 실제 활어수송 컨테이너 내 조피볼락을 수송한 후 생존과 생리 변화에 대한 연구가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 적정 수송 조건(8°C, 33±1 psu)의 활어수송 컨테이너에 조피볼락을 14일간 수송하면서 생존율, 혈액성상, 혈구 사멸률 및 조직학적 변화와 같은 생리반응을 조사하였다.

재료 및 방법

실험어 및 실험 조건

실험에 사용된 활어수송 컨테이너는 운반수조, 순환펌프, 냉각장치, 자외선 살균 장치, 산소발생장치 및 수질환경 제어 센서 등으로 구성되었다. 조피볼락(전장 27.2±1.4 cm, 체중 379±38 g)은 거제 소재의 가두리 양식장에서 구입하여 거제수협수산물종합가공공장의 콘크리트 수조로 운반하여 실험 시작 전 2주간 순치하였다(15±1°C, 33.5±0.5 psu). 순치 기간 후, 실험용 활어수송 컨테이너 내 운반수조(1톤, 15±1°C, 33±1 psu)에 실험어를 290 kg (약 725마리)을 수송하였다. 대조구로는 유수식의 1톤 원형수조(FRP, fiber reinforced plastics)를 설정하였으며, 실험어는 활어수송 컨테이너 운반수조와 동일하게 전체 체중 290 kg을 수송하였다.

실험구는 수온을 시간당 2°C씩 하강시킨 후 8°C에서 14일간 유지시켰으며, 실험 시작 시와 7일 및 14일에 실험어(15마리)에서 혈액과 조직 시료를 채취하였다. 14일 이후에는 실험수조의 수온을 시간당 2°C씩 상승시켜 수온 15°C에서 4일 후(18일째, 회복 4일)에 실험어(15마리)의 혈액을 채취하였다. 저수온에서의 유지 기간은 국내에서 미국 로스엔젤레스까지 활어수송 컨테이너가 운송되는 기간을 감안하여 14일로 설정하였다.

대조구는 수조(1톤)에 일반해수를 지속적으로 주수하였으며, 실험기간 동안의 평균수온은 15±1°C였다. 실험구의 시료채취와 동일한 시기에 실험어 15마리에서 혈액과 조직 시료를 채취하였다. 용존산소는 실험구와 대조구 모두 포화농도의 90% 이상을 유지하였다.

혈액 채취

실험구와 대조구에서 실험어를 150 ppm의 2-phenoxyethanol (Junsei, Japan)로 마취시킨 후, heparin sodium을 처리한 주사기로 미부혈관에서 채혈하였다. 채혈된 혈액의 일부는 hema-

tocrit (Ht), hemoglobin (Hb) 측정 및 유세포 분석을 위해 즉시 분석에 사용하였으며, 나머지는 원심분리(14,000 g, 4°C, 10분) 후 혈장을 분석 전까지 -80°C에 보관하였다.

혈액 성분 분석

Ht은 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) 및 이온(Na⁺, Cl⁻)은 건식임상화학자동분석장치(FUJI DRI-CHEM 4000i, Japan)를 이용하여 측정하였다. 삼투질 농도는 vapor pressure osmometer (Wescor Co., USA)로 측정하였다.

혈중 cortisol은 효소면역분석법(EIA, enzyme immunoassay)을 이용한 cortisol EIA kit (Oxford, USA)를 사용하여 다음과 같이 측정하였다. 혈장 100 µL에 1 mL ethyl ether를 첨가하여 cortisol을 추출한 후, 시료의 상층액을 분리하여 이를 N₂가스로 증발시켰다. 잔여물을 100 µL의 extraction buffer에 녹인 후 다시 extraction buffer로 100배 희석시켜 이를 샘플로 사용하였다. Standard solution 또는 샘플을 50 µL씩 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 µL씩 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 7.8%와 6.1%이었다.

유세포 분석

혈액의 hemocyte population 및 hemocyte mortality는 flow cytometry (Gallios flow cytometry, Beckman Coulter, USA)로 분석하였다. Hemocyte population은 200 µL의 혈액을 동일량의 3% 포르말린으로 고정시킨 후, SYBR green I (Sigma, USA)을 첨가하여 실온에서 90분간 반응시켰다. 이후 flow cytometry의 FL-1 detector를 이용하여 SYBR green I에 염색된 혈구만을 선택하여 forward scatter (FSC) detector와 slide scatter (SSC) detector를 이용하여 혈구의 크기와 내부 밀도에 따라 분류하였다(Fig. 1). Hemocyte mortality는 phycoerythrin (PE) AnnexinV apoptosis detection kit (BD Pharmingen™, USA)를 사용하여 혈구를 PE AnnexinV와 7-Amino-Actinomycin (7-AAD)로 이중염색을 하여 측정하였다. 간략히 설명하자면 먼저 혈구수를 10⁶-10⁷ cells/mL로 맞추기 위해 혈액 내 혈구수를 hemocytometer를 이용하여 측정 후 binding buffer [0.1 M HEPES/NaOH (pH 7.4), 1.4 M NaCl, 25 mM CaCl₂]로 희석시켰다. 희석된 혈액 100 µL에 PE AnnexinV와 7-AAD를 각각 5 µL씩 첨가한 후 15분간 반응 시켰다(dark, room temperature). 이후 binding buffer 400 µL를 첨가하여 flow cytometry로 1시간 이내에 염색 유무를 분석하여 live cells (염색 반응 없

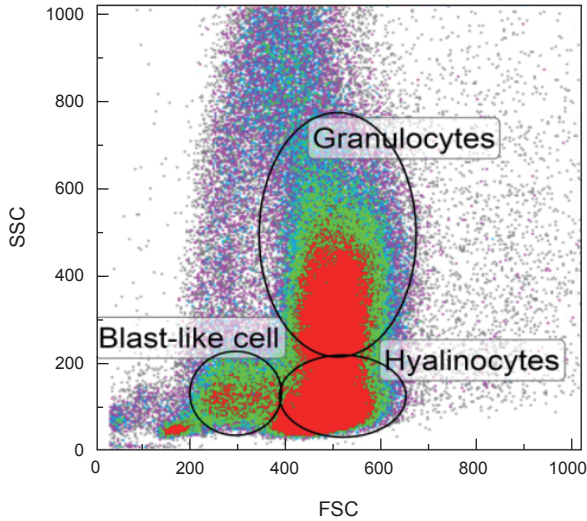


Fig. 1. Flow cytometric determination of the hemocyte populations of Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. Three populations of hemocytes were distinguishable in rockfish: blast-like cells, hyalinocytes and granulocyte. Representative results of 15 fish individuals. SSC, side scatter; FSC, forward scatter.

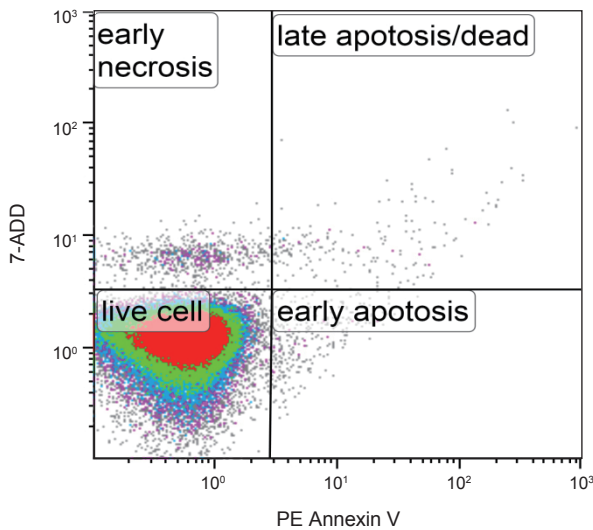


Fig. 2. Flow cytometric analysis of 7-AAD and PE Annexin V staining for discrimination of apoptosis and necrosis of hemocytes of Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. Representative results of 15 fish individuals. 7-AAD, 7-Amino-Actinomycin; PE, phycoerythrin.

음, apoptotic cells (AnnexinV에 염색), necrotic cells (7-AAD에 염색)로 구분하였다(Fig. 2).

조직학적 분석

활어수송 컨테이너에 수용한 조피볼락의 조직변화를 조사하

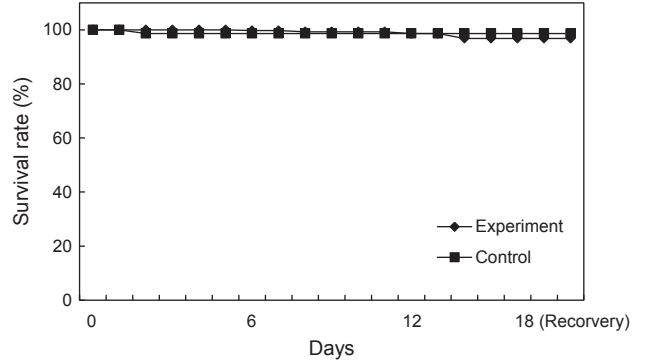


Fig. 3. Survival rate of Korean rockfish *Sebastes schlegeli* in control and experiment group for 18 days.

기 위해 실험 개시 시와 실험 14일에 실험구 조피볼락의 아가미와 피부 조직을 적출하여 조직학적 분석을 실시하였다. 광학현미경 조직표본 제작은 적출한 시료들을 10% 중성포르말린 용액에 24시간 동안 고정하고, 1 mm 두께로 잘라 다시 10% 중성포르말린 용액에 24시간 동안 재고정 한 후 24시간 동안 흐르는 물에 수세하였다. 그 후 표본조직가공기(Leica, Germany)를 이용하여 70%, 80%, 90%, 95%, 100% 순으로 1시간씩 단계별 ethanol 탈수과정을 거친 후 paraplant (McCormick, USA)에 2시간 동안 침투시켜 파라핀 포매기(Leica EG 1150H, Germany)를 이용해 포매를 하였다. 포매 된 시료는 microtome (RM2235, Leica, Germany)을 이용하여 4 µm 두께로 연속 절편하여 조직표본을 제작한 후 Harris hematoxylin-eosin Y (H-E) 대비 염색을 하여 광학현미경(DF/Axioscope A1, Carl Zeiss, Jena, Germany)으로 관찰하였다.

통계 처리

통계분석은 SPSS program (ver 17.0)을 사용하여 실시하였으며, 실험구와 대조구의 평균간 유의성을 t-test로 검증하였다 (P<0.05). 모든 측정값은 평균±표준편차로 표현하였다.

결 과

생존율

실험 종료 시 실험구와 대조구의 생존율은 각각 97% 및 99%로 높은 결과를 보였다(Fig. 3).

혈액 성상 변화

실험구와 대조구의 혈액 성상 변화는 Fig. 4에 나타내었다. 실험구의 Ht 범위는 26.8-41.4%로 28.0-36.2%인 대조구와 유의한 차이가 없었다. Hb는 실험구가 7.0-8.5 g/dL, 대조구가 7.9-8.6 g/dL로 유의한 차이가 없었다(P>0.05).

Glucose는 0일에 실험구가 93.0±11.8 mg/dL로 대조구보다 유의하게 높았고(P<0.001) 7일에는 대조구가 48.8±10.8 mg/

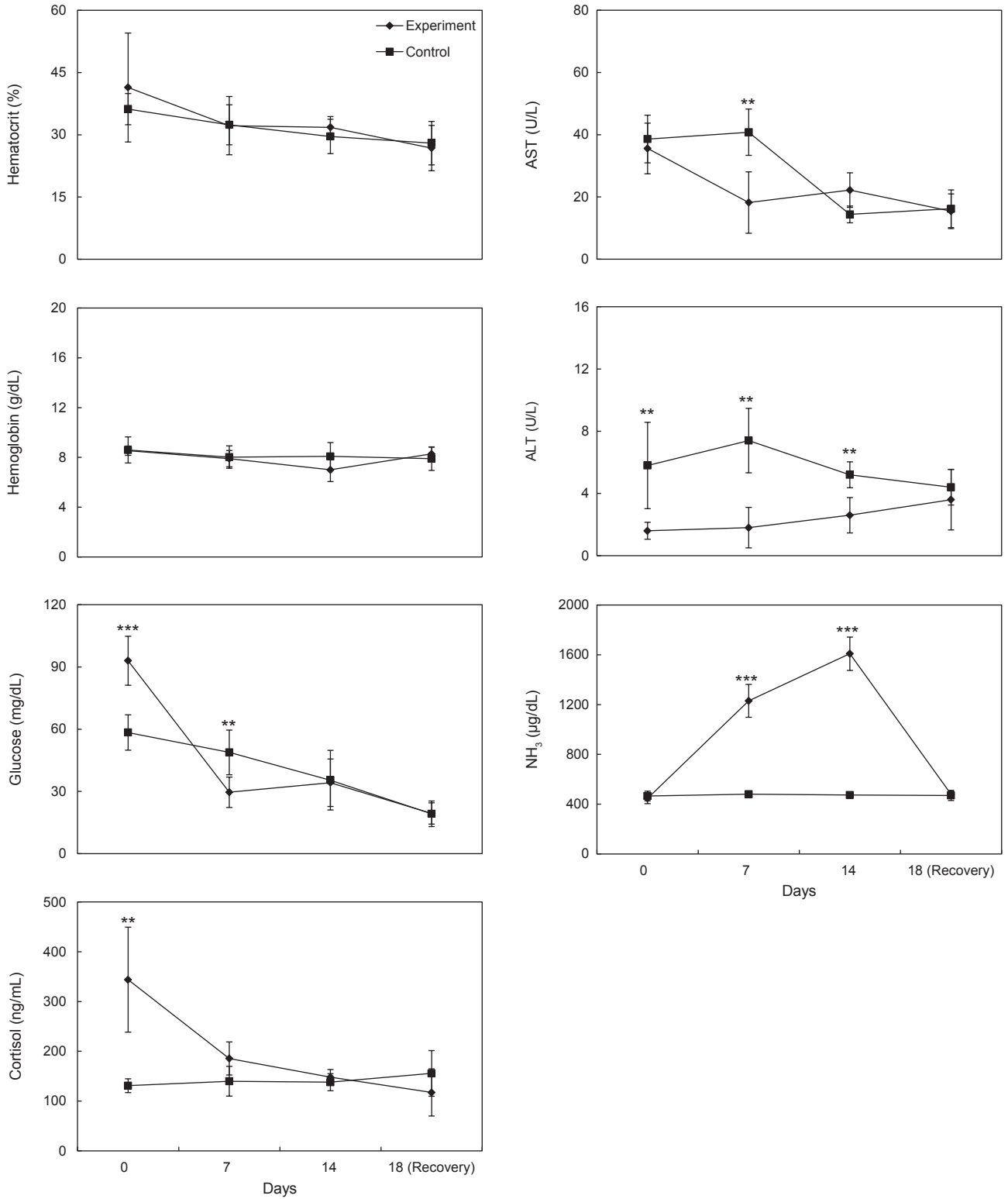


Fig. 4. Change of blood parameters of Korean rockfish *Sebastes schlegelii* in control and experiment group for 18 days. AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase. Values are presented as mean \pm standard deviation; For each day, n=15. Asterisk mean significant difference between control and experiment group. **, P<0.01; ***, P<0.001.

dL로 실험구에 비해 유의하게 높았으나(P<0.01), 14일 이후부터 유의한 차이는 없었다(P>0.05). Cortisol은 0일에 실험구가 343.9±105.4 ng/mL로 대조구에 비해 약 3배가량 높게 나타났으나(P<0.001), 이후 실험구의 cortisol 농도는 감소하여 7일부터는 대조구와 유의한 차이가 나타나지 않았다(P>0.05).

AST는 7일에 대조구가 실험구에 비해 유의하게 높았으나(P<0.01), 나머지 실험기간 동안 유의한 차이는 없었다(P>0.05). ALT는 14일까지는 대조구가 실험구에 비해 유의하게 높게 나타났으나(P<0.01), 회복기간 이후에는 유의한 차이가 없었다(P>0.05).

NH₃는 7일부터 14일까지 실험구가 대조구에 비해 약 3배 가량 높게 나타났지만(P<0.001), 회복 후에는 478±26 µg/dL로 실험 직후 수준으로 다시 낮아졌으며 대조구와도 유의한 차이가 없었다(P>0.05).

혈장 이온 및 삼투질 농도 변화는 Fig. 5에 나타내었다. Na⁺과 Cl⁻은 14일에 대조구가 실험구에 비해 유의하게 높았으나(P<0.05) 나머지 기간 동안 유의한 차이는 없었다(P>0.05). 삼투질 농도 범위는 실험구는 316-364 mmol/kg, 대조구는 330-365 mmol/kg으로 실험 기간 동안 유의한 차이가 없었다(P>0.05).

Hemocyte population

Hemocyte population 비율 변화는 Fig. 6에 나타내었다. 조피볼락의 hemocyte population 내 blast like cell, hyalinocyte 및 granulocyte 비율은 전 실험기간 동안 실험구와 대조구간 유의한 차이는 없었다(P>0.05).

Hemocyte mortality

Hemocyte mortality 변화는 Fig. 7에 나타내었다. Live cell의 비율은 실험구가 98.0-98.8%, 대조구가 97.0-99.2%로 실험기간 동안 유의한 차이는 없었다(P>0.05). Apoptotic cell 비율은 실험기간 동안 실험구와 대조구간 유의한 차이는 없었다(P>0.05). Necrotic cell 비율은 14일에 실험구가 0.6±0.3%로 대조구(0.1±0.1%)에 비해 유의하게 높게 나타났지만(P<0.05) 나머지 실험 기간 동안 대조구와 유의한 차이는 없었다(P>0.05).

조직학적 변화

실험 0일과 14일 째 실험어의 피부와 아가미 조직 변화는 Fig. 8에 나타내었다. 0일째 피부의 상피층에는 다층의 상피세포들과 타원형의 점액세포들이 관찰되었으며, 진피층에는 비늘이 존재하고 있었다. 아가미는 새엽에 다수의 새판이 줄지어 늘어서 있었으며, 새판을 둘러싸고 있는 세포는 호흡세포로서 단층의 편평상피세포의 형태였다. 새엽의 중앙에는 연골모세포로 구성된 연골조직이 관찰되었다. 실험 14일 피부의 상피층에서 다수의 점액세포들이 관찰되었다. 이들 점액세포들은 원주형에서 긴 타원형으로 비대 되었다. 아가미는 다양한 조직학적인

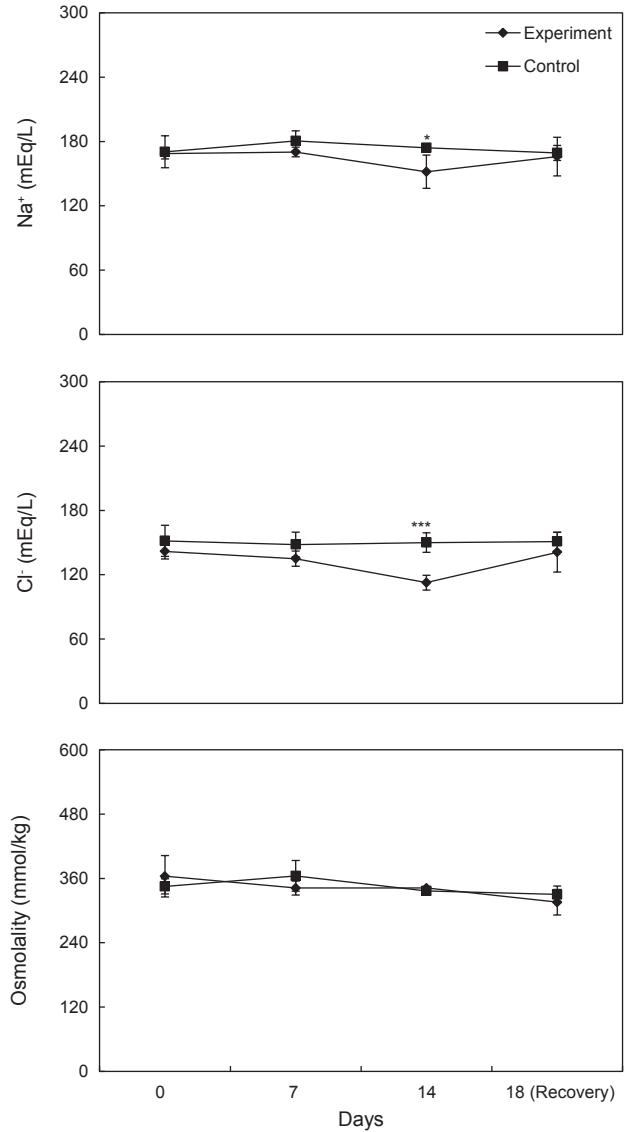


Fig. 5. Change of plasma ion and osmolality on Korean rockfish *Sebastes schlegeli* in control and experiment group for 18 days. Values are presented as mean±standard deviation; For each day, n=15. Asterisk mean significant difference between control and experiment group. *, P<0.05; ***, P<0.001.

변화가 관찰되었는데, 새엽의 상피세포들이 과증식되거나 비대 되었으며, 염세포와 점액세포가 증가되었다. 새판은 둘러싸고 있는 호흡세포들은 편평형에서 입방형으로 비대되었으며, 부분적으로 새판의 융합이 관찰되었다.

고찰

활어류 운송에 있어서 부적합한 방법으로서의 수송은 운반되는 어류의 대량 폐사를 유발할 수 있다(Staurnes et al., 1994). 그

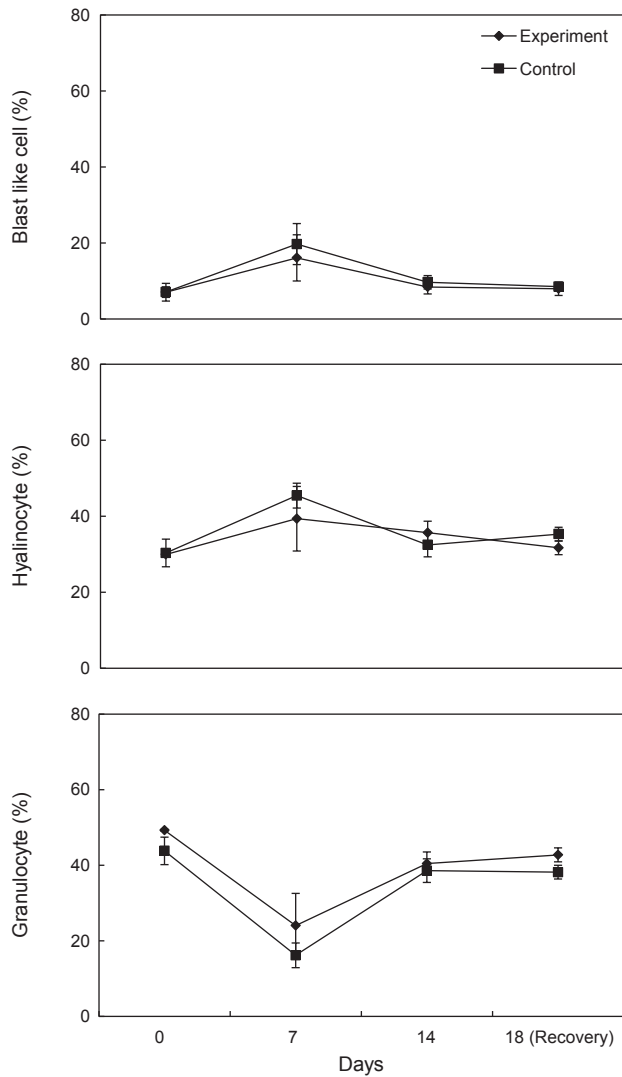


Fig. 6. Change of hemocyte population in Korean rockfish *Sebastes schlegeli* in control and experiment group for 18 days. Values are presented as mean±standard deviation; For each day, n=15.

러나 본 연구에서는 실험기간 동안 실험구의 생존율이 97%로 높게 나타났으며, 대조구와 비교하여 혈액 지표 및 조직학적 변화가 현저한 차이를 보이지 않아 수온 8℃, 염분 33 psu의 활어 수송 컨테이너 수송은 조피볼락의 장기간(14일) 수송에 적합한 것으로 판단된다.

어류는 스트레스를 받게 되면 혈액 내 cortisol, glucose, AST, ALT 및 이온 등의 농도가 변할 수 있다(Samet et al., 1996; Fotedar and Evans, 2011). Donaldson (1981)은 수송 스트레스로 인해 수송되는 어류의 혈액 내 cortisol과 glucose 농도가 증가한다고 하였다. Staurnes et al. (1994)은 대서양대구(*Gadus morhua*)의 혈액 내 cortisol과 glucose 농도가 24시간 이상 수송 시 수송 전에 비해 높아진다고 보고하였다. 또한 Nomura et

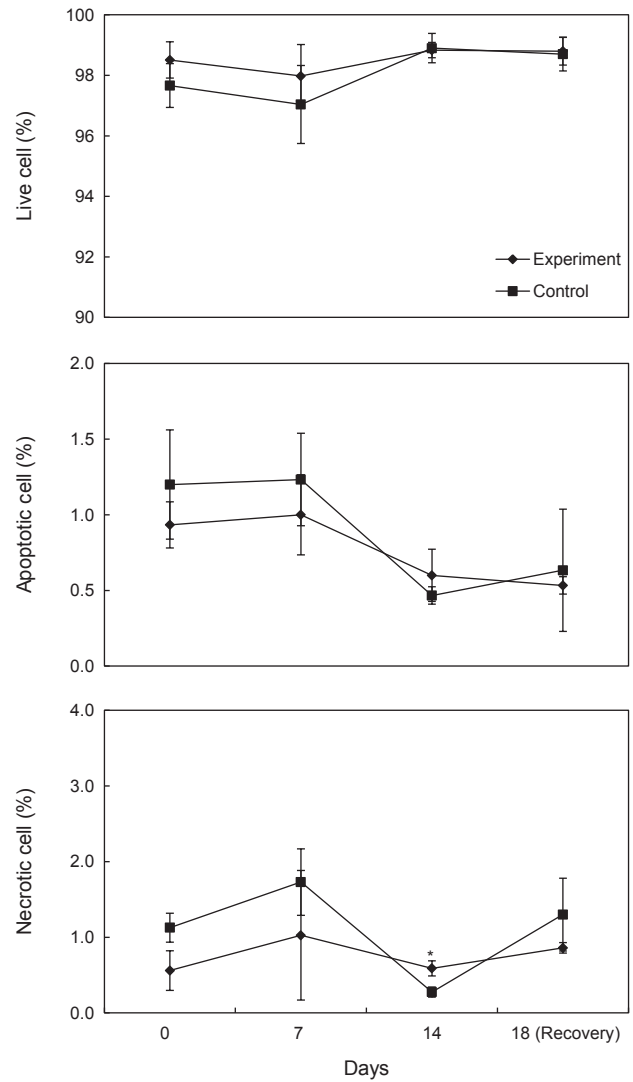


Fig. 7. Change of hemocyte mortality in Korean rockfish *Sebastes schlegeli* in control and experiment group for 18 days. Values are presented as mean±standard deviation; For each day, n=15. Asterisk mean significant difference between control and experiment group. *, P<0.05.

al. (2009)은 대서양 연어(*Salmo salar*) smolt를 30-90분 동안 트럭으로 수송 했을 때 혈장 cortisol과 glucose농도가 수송 전에 비해 4-6배 가량 높게 나타났다고 보고하였다. 본 연구에서 실험 개시 시 실험구의 glucose와 cortisol 농도가 유의하게 높았으나, 점차 감소하여 7일 이후로는 대조구보다 낮거나 유의한 차이가 없었다. 이는 실험 개시 시 조피볼락을 활어수송 컨테이너에 수송하는 데 발생하는 핸들링과 실험 수온(8℃)으로 수온을 하강시키는 과정에서 발생하는 스트레스에 의해 일시적으로 혈액 내 glucose와 cortisol 농도가 증가한 것으로 보여진다. 7일부터 glucose와 cortisol 농도가 다시 감소한 것으로 보아 활어

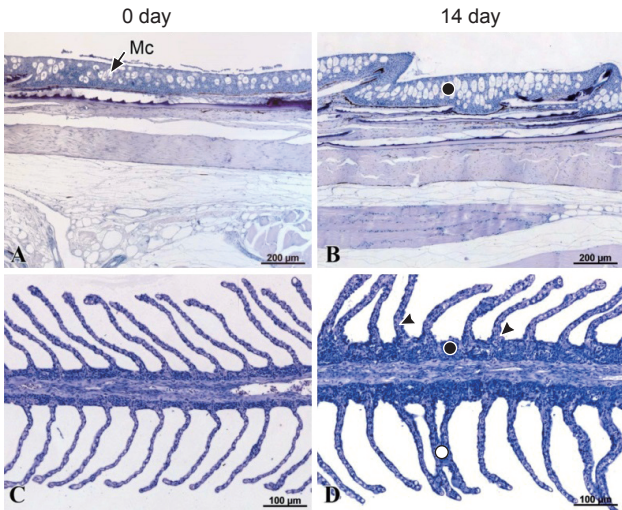


Fig. 8. Histological microscopy in the skin and gill of Korean rockfish *Sebastes schlegelii* in live fish container. A, skin (initial); B, skin (14 days); C, gill (initial); D, gill (14 days); Mc, mucous cell; ●, hyperplasia of epithelial cell; ○, condensing gill plate; ◀, hypertrophy of mucous cell; ▲, hypertrophy of epithelial cell.

수송 컨테이너에 수용된 조피볼락은 7일 이후부터 수송 조건에 순응하는 것으로 판단된다.

Ht과 Hb는 체내의 산소 운반능력을 나타내며, 스트레스나 생리 활성의 지표로 이용되며, 일반적으로 스트레스를 받으면 증가하거나 감소한다(Davis and Parker, 1990). 본 연구에서 조피볼락의 Ht는 대조구와 실험구가 각각 28.0-36.2%와 26.8-41.4%, Hb가 대조구와 실험구 각각 7.9-8.6 g/dL와 7.0-8.5 g/dL로 서로 간 유의한 차이가 나지 않아 활어수송 컨테이너로 수송 시 조피볼락의 생리적 장애는 발생하지 않을 것으로 판단된다.

어류의 경우 AST와 ALT는 간 장애를 반영하는 지표로서 간 조직 손상 시 다량으로 혈중으로 유출된다(Smith and Ramos, 1980). 본 연구에서 조피볼락의 AST와 ALT 농도가 대조구에 비해 유의하게 낮거나 차이가 없어, 본 연구의 수송 조건은 조피볼락의 간 기능에 장애를 유발하지 않을 것으로 판단된다.

어류는 간이나 신장 조직이 손상될 경우 혈액 내 NH₃ 농도가 증가하는 것으로 보고되었다(Thurston et al., 1978; Randall and Tsui, 2002). 본 연구에서 실험구 조피볼락의 혈장 내 NH₃ 농도는 7일부터 14일까지 대조구에 비해 3배 이상 높게 나타났다(1230-1609 μg/dL). 하지만 AST와 ALT농도는 실험구와 대조구간 차이를 보이지 않아 신장 조직 손상이나 간 기능 저하에 의한 NH₃의 농도 증가라기 보다는 활어수송 컨테이너 내 운반수의 NH₃ 농도 상승에 의한 것으로 판단된다. Evans et al. (2005)는 어류의 체내 NH₃ 농도에 비해 사육수의 NH₃ 농도가

높을 경우 아가미로 사육수의 NH₃가 유입되는 것으로 보고하였으며, 기존에 보고된 조피볼락의 연구에서도 실험어 혈액 내 NH₃농도는 사육수의 NH₃ 농도가 증가함에 따라 높아지는 것으로 보고되었다(Min et al., 2014). 혈액 내 암모니아 농도 상승은 생리적인 장애를 가져와 폐사가 발생할 수 있지만 Min et al. (2014)의 연구에서 조피볼락을 4 mg/L와 8 mg/L 농도의 NH₃에 노출시켰을 때 혈장 내 NH₃ 농도가 각각 1950 μg/dL와 2140 μg/dL로 본 연구 결과보다 높게 나타났으나 실험 기간 중 폐사가 발생하지 않았다. 또한 본 연구에서도 실험구 생존율이 97%로 높게 나타나 혈장 내 암모니아 수치가 다소 높더라도 본 실험 조건으로 14일의 수송은 조피볼락 생존에 문제가 없는 것으로 생각된다. 그러나 14일 이상의 수송에는 폐사가 발생할 가능성이 있으므로 수용 밀도를 낮추거나 여과기의 암모니아를 제거능을 향상시키는 등의 조치가 필요하다고 사료된다.

수서생물은 체내 이온 및 삼투질 농도의 불균형이 지속되면 조직 괴사 및 면역력 감소 등의 생리적 장애현상이 나타나 심할 경우 폐사에 이르게 된다(Eddy, 1981). 본 연구에서는 이온 및 삼투질 농도는 실험기간 동안 대조구와 실험구간 차이 없어 활어수송 컨테이너로 수송되는 조피볼락의 삼투압 조절 능력에 큰 문제가 없을 것으로 판단된다.

수송 후 수송 생물이 죽는 현상을 delayed mortality syndrome이라 한다(Harmon, 2009). Portz et al. (2006)은 그 원인을 수송 스트레스로 인한 면역력 저하로 보고한 바 있다. 면역력의 지표로는 hemocyte population과 hemocyte mortality가 있으며, 면역력이 저하되면 hemocyte population비율이 변하거나 hemocyte mortality가 증가한다(Bly et al., 1990; Omar-Ali et al., 2015).

어류의 hemocyte population은 주로 hyalinocyte와 granulocyte로 구분되며, 이중 식균작용을 하는 neutrophil로 대부분 구성된 granulocyte가 면역작용을 담당하는 것으로 알려져 있다(Kurata et al., 1997; Omar-Ali et al., 2015). 본 연구에서도 조피볼락의 hemocyte population은 hyalinocyte와 granulocyte로 이루어진 것으로 나타났다. 조피볼락의 hemocyte population비율은 실험기간 동안 실험구와 대조구간의 유의한 차이가 없었다. Granulocyte는 회복 이후 실험구에서 유의하게 높게 나타나, 본 연구의 조건으로 14일 간의 활어수송 컨테이너로 수송된 조피볼락의 현저한 면역력 저하는 나타나지 않을 것으로 판단된다.

Hemocyte mortality는 혈구의 apoptotic cell과 necrotic cell의 비율을 통해 확인할 수 있다. Apoptosis는 ATP를 소모하여 관련 유전자에 의해 파괴된 세포가 식세포에 제거되는 것을 말하며, necrosis는 물리적인 요인에 의해 직접적으로 세포가 터져 죽게 되면서 염증을 동반하는 것을 말한다(Martello and Tjeerdema, 2001; Kiss, 2010; Ray et al., 2013). Hemocyte mortality는 주로 독성, 세균 감염 및 환경 스트레스 등에 의해 증가하며, apoptotic cell과 necrotic cell의 비율이 증가하여

cell viability가 낮아지게 되면 세포 손상 및 면역 기능이 저하된다(Fournier et al., 2001; Kiss, 2010). 본 연구에서 hemocyte mortality는 실험구와 대조구 큰 차이가 없어, 활어수송 컨테이너로 14일간 조피볼락을 수송 시 cell viability에 이상이 없을 것으로 판단된다.

어류가 스트레스에 노출되면 피부의 점액세포 과증식과 상피세포의 변형이 관찰되고, 아가미 새판 상피층의 비대 및 염세포의 과증식과 같은 조직학적 변화가 일어난다(Philpott, 1980). 본 연구에서 14일 실험구의 피부와 아가미에서 점액세포 과증식 및 비대, 상피세포의 과증식 등의 조직학적인 변화가 관찰되었다. 본 연구 결과로 볼 때 실험구의 생존율은 97%로 높게 나타났다으며, 대조구와 비교했을 때 혈액 성분, 혈구 사멸률 및 조직병리학적으로 특이한 변화가 나타나지 않아, 활어수송 컨테이너를 이용하여 8°C 및 33 psu의 해수로 14일간 조피볼락을 수송하는 방법은 장거리 수송에 적합한 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 국립수산물연구원 수산과학연구사업(R2018005)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

- Berka R. 1986. The transport of live fish. A review. EIFAC Technical Report 48, FAO, Rome, Italy, 52.
- Bly JE, Miller NW and Clem LW. 1990. A monoclonal antibody specific for neutrophils in normal and stressed channel catfish. *Dev Comp Immunol* 14, 211-221. [http://dx.doi.org/10.1016/0145-305X\(90\)90092-S](http://dx.doi.org/10.1016/0145-305X(90)90092-S).
- Carmichael GJ, Tomasso JR, Simco BA and Davis KB. 1984. Characterization and alleviation of stress associated with hauling largemouth bass. *Trans Amer Fish Society* 113, 778-785. [http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659\(1984\)113<778:CAAOSA>2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659(1984)113<778:CAAOSA>2.0.CO;2).
- Cho YJ, Kim YY, Lee NG and Choi YJ. 1994. Basic studies on developing equipment for waterless transportation of live fish. *Korean J Fish Aquat Sci* 27, 501-508.
- 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).
- Donaldson EM. 1981. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In: *Stress and fish*. Pickering AD, ed. Academic Press, New York, NY, U.S.A., 11-48.
- Eddy FB. 1981. Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish. In: *Stress and Fish*. Pickering AD, ed. Academic Press, New York, NY, U.S.A., 77-102.
- Evans DH, Piermarini PM and Choe KP. 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiol Rev* 85, 97-177. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00050.2003>.
- 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).
- Fournier M, Pellerin J, Clermont Y, Morin Y and Brousseau P. 2001. Effects of in vivo exposure of *Mya arenaria* to organic and inorganic mercury on phagocytic activity of hemocytes. *Toxicology* 161, 201-211. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00387-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00387-5).
- Fotadar S and Evans L. 2011. Health management during handling and live transport of crustaceans: A review. *J Invert Pathol* 106, 143-152. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2010.09.011>.
- 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>.
- Kurata O, Okamoto N and Ikeda Y. 1997. Adaptability of carp neutrophilic granulocytes to environmental temperatures: spontaneous cytotoxic activity and cell-adherent activity. *Fish Shell Immunol* 7, 585-593. <http://dx.doi.org/10.1006/fsim.1997.0110>.
- Martello LB and Tjeerdema RS. 2001. Combined effects of pentachlorophenol and salinity stress on chemiluminescence activity in two species of abalone. *Aqua Toxicol* 51, 351-362. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-445X\(00\)00110-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-445X(00)00110-7).
- Min BH, Park MS, Shin YK, Do YH and Myeong JI. 2014. Physiological responses in Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) exposed to ammonia. *Korean J Environ Biol* 34, 344-352. <http://dx.doi.org/10.11626/KJEB.2014.32.4.344>.
- MOF (Ministry of Oceans and Fisheries). 2017. Statistic Database for Fishery Production Survey [Internet]. Retrieved from <http://stat.mof.go.kr/portal/cate/partStat.do> on Nov 15, 2017.
- Nomura M, Slomon KA, Von Keyserlingk MAG and Farrell AP. 2009. Physiology and behavior of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts during commercial land and sea transport. *Physiol Behav* 96, 233-243. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.10.006>.
- Omar-Ali A, Hohn C, Allen PJ, Rodriguez J and Petric-Hanson L. 2015. Tissue PAH, blood cell and tissue changes following exposure to water accommodated fractions of crude oil in alligator gar, *Atractosteus spatula*. *Mar Environ Res* 108, 33-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.04.011>.
- Philpott CW. 1980. Tubular system membranes of teleost chloride cells: Osmotic response and transport sites. *Amer J Physiol* 238, 171-184. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.1980.238.3.R171>.

- 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, U.S.A., 517.
- Portz DE, Woodley CM and Cech JJ Jr. 2006. Stress-associated impacts of short-term holing on fishes. *Rev Fish Biol Fish* 16, 125-170. <http://dx.doi.org/10.1007/s11160-006-9012-z>.
- Randall DJ and Tsui TKN. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Mar Pollut Bull* 45, 17-23. [http://dx.doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00227-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00227-8).
- 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 Shell Immunol* 35, 499-512. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2013.05.008>.
- Samet M, Nakamura K and Nagayama T. 1996. Tolerance and respiration of the prawn *Penaeus Japonicus* under cold air conditions. *Aquaculture* 143, 205-214. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(96\)01263-X](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(96)01263-X).
- Smith AC and Ramos F. 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>.
- Staurnes M, Sigholt T, Pedersen HP and Rustad T. 1994. Physiological effect of simulated high-density transport of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 119, 381-391. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90302-6](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(94)90302-6).
- Thurston RV, Russo RC and Smith CE. 1978. Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. *Trans Amer Fish Soc* 107, 361-367. [http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659\(1978\)107<361:ATOAAAN>2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659(1978)107<361:ATOAAAN>2.0.CO;2).
- Yang SJ, Lee JY, Shin YK, Hwang HK and Myeong JI. 2016. Effects of temperature and salinity on survival, metabolism and histological change of the rockfish, *Sebastes schlegeli*. *J Fish Mar Sci Educ* 28, 1068-1075. <http://dx.doi.org/10.13000/JFMSE.2016.28.4.1068>.
- Yang SJ, Lee JY, Jun JC, Myeong JI and Min BH. 2017. Investigation of suitable temperature and salinity range for long-distance transport of the rockfish *Sebastes schlegeli*. *Korean J Fish Aquat Sci* 50, 25-31. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2017.0025>.
- Yang YS, Lee KH, Bae JH, Kim SH, Park SW, Park TI and Koo JS. 2015. Operation design for long-distance live fish container transport system. *J Kor Fish Technol* 51, 333-339. <http://dx.doi.org/10.3796/KSFT.2015.51.3.333>.
- Yeager DM, Van Tassel JE and Woolwy CM. 1990. Collection transportation and handling of striped bass brood stock. In: Culture and propagation of striped bass and its hybrids. Harrel RM, Kerby JH and Monton RV, eds. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, MD, U.S.A., 39-42.
- Yoon MJ, Lee JD, Kang KH, Park SY and Kim JG. 2015. Physicochemical properties of olive flounder *Paralichthys olivaceus*, Red seabream *Pagrus major* and Jacopever *Sebastes schlegeli*. *J Fish Mar Sci Educ* 27, 1447-1456. <http://dx.doi.org/10.13000/JFMSE.2015.27.5.1447>.
- Yoshikawa H, Ueno S and Mitsuda H. 1989. Short and long term cold-anesthesia in Carp. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55, 491-498. <http://dx.doi.org/10.2331/suisan.55.491>.