

동합금 가두리 망 사육어류, 조피볼락 (*Sebastes schlegeli*)의 혈액 성상과 중금속 축적률

양성진 · 전제천 · 박정준 · 명정인 · 신윤경*

국립수산과학원 전략양식연구소 양식관리과

Change of Hematological Characteristic and Heavy Metal Concentration on Rockfish (*Sebastes schlegeli*) Rearing in the Copper Alloy Mesh by Sung-Jin Yang, Je-Cheon Jun, Jung-Jun Park, Jeong-In Myeong and Yun-Kyung Shin* (Aquaculture Management Division, Aquaculture Research Institute, NFRDI, Busan 619-902, Korea)

ABSTRACT The effect of substances discharged from copper alloy mesh on the survival rate, growth, and health status of *Sebastes schlegeli* was investigated. Survival rate of experimental group was 10% higher than control group. There was no significant difference in weight gain and SGR between control group and experiment group ($P < 0.05$). Glucose concentration was lower in the experimental group than that in the control group. GOT and GPT contents did not show significant difference during experiment except for the early three months of experiment ($P < 0.05$). Ammonia concentration had not significantly changed in the experimental group, but it had increased until four months of experiment and then decreased afterwards in the control group. TCHO had decreased in the experiment group compared with that of control group. Copper and zinc contents had increased as compared with those in the initial stage of experiment with no significant difference between experiment group and control group ($P < 0.05$). Histological analysis for the liver revealed that liver tissues were not particularly different from those in control group. There were no significant differences in survival rate, growth, and hematological characteristic between control group and experiment group ($P < 0.05$). Though copper and zinc were accumulated as compared with those during the initial stage of experiment, the levels were lower than permissible levels for copper and zinc. As a result, copper alloy mesh would not adversely affect on the survival rate, growth, and health status of fishes.

Key words : Copper alloy mesh, growth, health status, hematological characteristic, *Sebastes schlegeli*, survival rate

서 론

우리나라 양식 시설의 약 80% 이상이 남해안의 내만에 집중되어 있어 한정된 공간에서의 장기간 고밀도 양식으로 인해 자가 오염이 심해져 생산량이 감소하는 추세이다. 이러한 문제점을 해결하는 방법 중 하나로 외해 양식이 논의되고 있다. 외해는 수질은 양호하나 강한 조류와 파도 등으로 기존의 양식 방법을 그대로 적용시키기에는 한계가 있으므로, 시설과 생물 피해를 최소화 할 수 있는 시설물의 개

발이 요구되고 있으며 그 중 동합금 가두리망(copper alloy mesh)이 부각되고 있다.

동합금망은 기존의 합성섬유 가두리망에 비해 내구성과 그 밖의 많은 이점으로 인해 이미 일본에서는 UR30 소재의 동합금 가두리망을 개발하여 실용화되고 있으며 호주나 칠레에서도 동합금 가두리망으로 대체한 가두리에서 연어를 양식하고 있다. 동합금망은 특히 부식과 생물 부착(biofouling) 방지에 매우 효과적이며(Efird and Anderson, 1975; Powell and Stillman, 2009), 내구성이 뛰어나 그물 손상에 의한 어류의 탈출이나 포식자의 침입 등의 손실을 줄일 수 있으며(Huguenin and Ansuimi, 1975), 그리고 강한 조류나 태풍과 같은 극한의 기상 조건 속에서도 구조적 완전성(structur-

*Corresponding author: Yun-Kyung Shin Tel: 82-51-720-2431
Fax: 82-51-720-2439, E-mail: Yunkshin@korea.kr

al integrity)과 안정성이 뛰어나다(Tsukrov *et al.*, 2011). 또한 항균 효과(Miles *et al.*, 1998)와 파손이나 biofouling이 적어 그에 따른 그물 교체에 의해 어류가 받는 스트레스나 상처가 적다는 이점이 있다(SINTEF, 2005).

동합금 표면은 수중에서 용해되어 구리 이온이 천천히 흘러나오게 되는데 해수 속에서는 구리는 산화가 되어 Cuprous oxide (CuO)가 되고 다시 분해되어 cuprous ion (Cu⁺)을 방출하며 방출된 Cu⁺는 산화되어 cupric ion (Cu²⁺)되며 이 Cu²⁺에 의해 생물 부착을 방지하게 된다. 이러한 구리 이온은 수서 환경 내에서 미량으로 존재하며 칼슘, 칼륨 그리고 나트륨 등과 같이 어류의 생명기능 유지에 필요한 필수 금속이며(Watanabe *et al.*, 1997; Lorentzen *et al.*, 1998; Canli and Atli, 2003), 물, 먹이 그리고 퇴적물을 통해 어류에게 유입된다(Solberg *et al.*, 2002; Canli and Atli, 2003). 이때 어류 체내로 유입된 금속 이온은 필수금속이라도 적정량을 초과하게 되면 독성을 띠어 어류의 성장과 건강도에 악영향을 주며(Kirchgesner and Schwarz, 1986; Furness and Rainbow, 1990; Kirk and Lewis, 1993), 어류의 조직 내 검출농도가 허용기준치를 초과하게 될 경우 식품안전상의 문제도 발생한다. 따라서 동합금망 사용은 현재의 합성섬유망에서 발생하는 생물부착에 의한 조류소통 차단에 의한 질병발생이나 폐사 방지와 그물 교체 등으로 인해 발생하는 인력과 경비 절감 그리고 자재의 재활용 등에 의한 친환경양식 추진으로 보건상 안전한 수산물 생산할 수 있다는 이점이 있지만 현장 적용을 위해선 설계적인 부분뿐만 아니라 동합금망에서 나오는 구리나 아연이 양식 어류의 생산성과 건강도에 미치는 영향에 대한 생물학적 연구가 필수적이다. 이와 관련된 연구는 구리 성분의 antifouling paint를 처리한 그물망이 가리비와 굴의 성장에 미치는 영향(Paul and Davies, 1986), 사육 어류와 수질에 미치는 영향(Lewis and Metaxas, 1991; Peterson *et al.*, 1991; Ytreberg *et al.*, 2010) 등과 같이 antifouling paint를 처리한 그물망에 관한 연구와 동합금으로 된 가두리망 제작에 관한 연구(SINTEF, 2005)에 이르기까지 현재까지 많은 연구가 이루어지고 있다.

따라서 본 연구에서는 구리와 아연이 주성분인 신규 동합금 소재를 사용하여 한국의 양식장에 적합한 가두리망을 개발하기 위하여 동합금 가두리 시설의 생물학적 기초 연구를 위해 동합금 가두리망에서 6개월간 사육한 조피볼락에 대상으로 생존율, 성장률, 혈액 성분, 중금속 축적률 차이 그리고 간의 조직학적 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험어 사육 및 실험조건

실험어인 조피볼락(*Sebastes schlegeli*) 1년생 (84.09 ± 18.81

g)과 2년생 (248.66 ± 43.02 g)을 거제 양식어류협회에서 구입하여 사육실 수조로 옮겨와 일주일간 순치시킨 후 외관상 건강한 개체를 선별하여 실험에 사용하였다. 구리와 아연이 주성분인 동합금 가두리망(Ø120 cm × 60 cm, mesh size 2 cm)은 2ton 수조에 설치하여 실험어 1년생과 2년생을 각각 70 마리씩 수용하였으며 대조구는 PVC 일반수조(2ton)에 70마리 수용하였다.

실험 기간은 6개월이었으며 수조의 환수율은 1일 48회전 유수식으로 사육하였다. 먹이로 수형에서 제작한 배합사료(넙치골드 15호)를 매일 2회 공급하였으며, 사료 내 구리와 아연의 함유량은 각각 0.045 mg/kg과 0.92 mg/kg이었다. 실험기간 동안 수온은 자연 수온을 유지하였다.

생존율은 실험 시작 후부터 매일 폐사어를 수거하여 누적 폐사율을 조사했으며, 동합금 가두리망에 따른 성장률 차이를 보기 위해 실험 개시 시와 종료 시의 조피볼락 1년생의 전장과 전중을 측정하여 증체율(weight gain, WG)과 일간 성장률(specific growth rate, SGR)을 구하였다. 또한 혈액 성상의 변동과 조직 내 중금속 농도 그리고 조직학적 변화를 알아보기 위해 1개월 간격으로 2년생 조피볼락을 7개체씩 무작위로 선별하여 혈액과 조직(간, 아가미, 근육)을 채취하였다.

$$WG = (FW - IW) / IW \times 100$$

$$SGR = (\ln(FW) - \ln(IW)) / \text{days} \times 100$$

IW: initial weight, FW: final weight

2. 혈액 분석

실험어는 2-phenoxyethanol (JUNSEI)로 마취시킨 후 미부 혈관(caudal vein or artery)에서 헤파린 처리한 3 mL 주사기를 이용하여 채혈하였으며, 채혈한 혈액은 14,000 g (4°C)으로 10분간 원심 분리하여 혈장만을 -70°C에 보관한 후 혈장 성분을 분석하였다. 혈장 내 glucose, aspartate aminotransferase (AST/GOT), alanine aminotransferase (ALT/GPT), NH₃, total cholesterol (TCHO)은 건식 임상화학 자동분석장치(FUJI DRI-CHEM 3500i, Japan)를 이용하여 분석하였다.

3. 중금속 분석

동합금 가두리 망에서 유출되는 중금속의 축적 농도를 조사하기 위하여 동합금 가두리 망에서 사육한 조피볼락의 간, 아가미 그리고 근육 내 구리와 아연 농도를 분석하였다. 채취한 시료는 증류수로 행군 뒤 24시간 동결건조 시킨 후 시료 100 mg 당 60% HNO₃ (JUNSEI) 10 mL를 넣고 Microwave Accelerated Reaction System (MARS, CEM)을 사용하여 완전히 용해시켰다. 용해된 시료는 3차 증류수에 10배 희석하여 희석된 시료의 구리와 아연 농도를 AAS (atomic

absorption spectrometer, novAA[®]300)로 측정하였고 이때의 standard curve는 standard 용액 (AnApure[™])을 사용하여 구하였다.

4. 조직학적 분석

광학현미경 조직표본 제작을 위해 적출한 시료들을 10% 중성포르말린 용액에 24시간 동안 고정하고, 48시간 동안 흐르는 물에 수세하였다. 고정된 시료는 70% 에탄올로 단계별로 탈수하여 파라핀 포매를 실시하였고 파라핀 포매된 조직은 파라핀 절편법에 의해 4µm 두께로 연속 절편하여 슬라이드 글라스에 부착하였다. 그 후, Harris hematoxylin-eosin Y (H-E) 염색을 하여 광학현미경 하에서 관찰하였다.

5. 통계처리

통계분석은 SPSS program (ver 17.0)을 사용하여 분석하였으며, 모든 실험의 실험구와 대조구 두 집단의 평균 간의 유의성은 Student's t-test를 이용하여 검정하였다 (P<0.05).

결 과

1. 생존율 및 성장률 측정

동합금 가두리 망에서 6개월 동안 사육한 조피볼락 1년생 및 2년생의 생존율은 Fig. 1에 나타내었다. 1년생 조피볼락의 생존율 감소는 대조구는 2일째, 실험구는 5일째부터 나타났다. 실험 시작 1개월 후의 생존율은 대조구와 실험구에서 각각 65.00%와 70.00%로 나타났으며, 실험 종료 시에는 각각 60.00%와 70.00%로 대조구에 비해 실험구에서 10.00% 높게 나타났다. 조피볼락 2년생은 실험 종료 시의 생존율이 실험구의 경우 83.75%, 대조구는 73.33%로 실험구에 비해 10.42% 낮게 나타났다.

6개월 동안 동합금 가두리망에서 사육한 조피볼락 1년생의 성장률은 Table 1과 같다. 1년생 조피볼락의 실험 초기 전중과 전장은 각각 약 84.09 g과 약 17.55 cm로 나타났고, 실험 종료인 6개월 후의 전중은 대조구와 실험구에서 각각 약 157.22 g과 152.59 g으로 나타났으며, 전장은 대조구와 실험구에서 각각 약 21.74 cm와 21.32 cm로 나타났다. 증체

율은 대조구와 실험구가 각각 86.97%와 81.46%로 대조구가 실험구보다 약 5.51% 높았으며 SGR도 0.32인 대조구가 0.30인 실험구에 비해 약 0.02 높게 나타났으나 증체율과 SGR 모두 대조구와 실험구 간의 유의한 차이는 나타나지 않았다 (P<0.05).

2. 혈액 분석

혈장 내 glucose, GOT, GPT, NH₃, TCHO의 변화는 Fig. 2에 나타내었다. 혈장 내 glucose 농도는 동합금 가두리망에서 사육 한달 째에는 대조구와 실험구 모두 45.0 mg/dL로 실험 개시 시 농도인 99.5 mg/dL보다 54.5 mg/dL 낮게 나타났으며 시간의 경과에 따라 glucose 농도가 감소하는 경향이

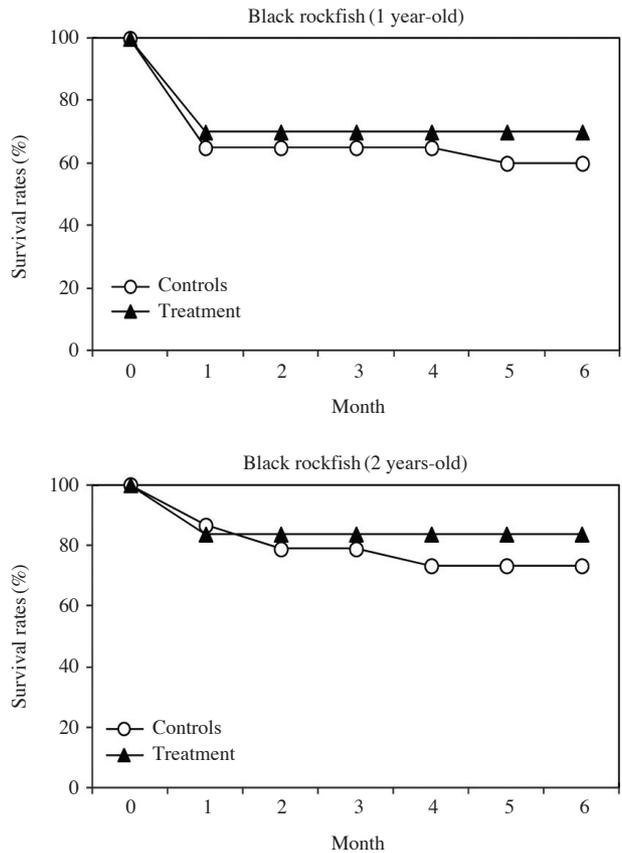


Fig. 1. Survival rate of *Sebastes schlegeli* (1 year and 2 years old) in control group (without copper alloy mesh) and treatment group (copper alloy mesh) for 6 months.

Table 1. Weight gain and specific growth rate of *Sebastes schlegeli* (1 year old) in control group (without copper alloy mesh) and treatment group (copper alloy mesh) for 6 months

	Duration (months)	Initial		Final		Weight gain (%) (WG)	Specific growth rate (SGR)
		Weight (g)	Length (cm)	Weight (g)	Length (cm)		
Control	6	84.09 ± 18.81	17.55 ± 0.90	157.22 ± 27.61	21.74 ± 1.31	86.97 ± 32.84	0.315 ± 0.094
Treatment	6	84.09 ± 18.81	17.55 ± 0.90	152.59 ± 29.06	21.32 ± 1.51	81.46 ± 35.63	0.297 ± 0.107

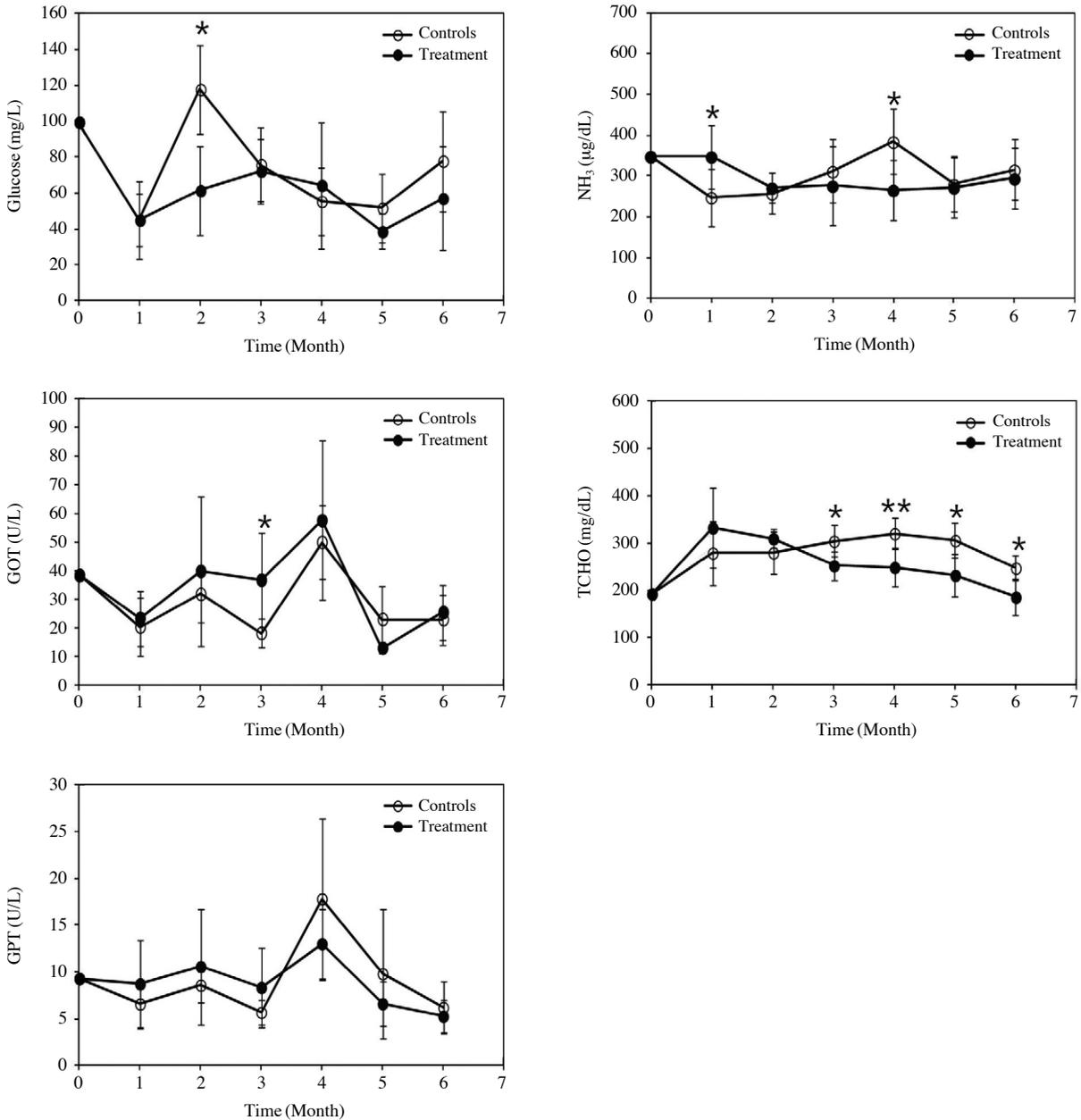


Fig. 2. Hematological parameters of *Sebastes schlegeli* (2 years old) in control group (without copper alloy mesh) and treatment group (copper alloy mesh) for 6 months (data as mean \pm standard deviation (N=7); significant difference at *P<0.05).

나타났다. 사육 2개월째 glucose 농도는 대조구 117.80 mg/dL, 실험구 61.10 mg/dL으로 유의한 차이가 나타났다(P<0.05). 이후 대조구와 실험구 간의 유의한 차이는 나타나지 않았으며(P<0.05), 전 실험기간 동안 glucose 농도는 실험구가 약 45~72 mg/dL로 45~117 mg/dL인 대조구에 비해 낮게 나타났다.

GOT 농도는 대조구와 실험구 모두 실험 5개월째까지 증가하다가 점차 감소하는 경향이 나타났다. 실험 초기인 사육 1개월째 GOT 농도는 대조구와 실험구가 각각 20.17 U/L

과 23.2 U/L으로 모두 실험 개시 시보다 15~18 U/L 낮은 농도로 나타났으나 실험 2개월째부터 증가하여 실험 5개월째 대조구와 실험구의 농도가 각각 49.75 U/L과 57.33 U/L으로 실험기간 중 가장 높게 나타났다. 대조구와 실험구 간의 유의한 차이는 실험 3개월째 나타났으며(P<0.05) 실험구가 36.50 U/L로 대조구에 비해 18.50 U/L 높게 나타났으나 나머지 실험기간에서는 대조구와 실험구 간의 유의한 차이는 나타나지 않았다(P<0.05). GPT 농도는 대조구와 실험구 모두 실험 5개월째까지 증가하다가 점차 감소하는 경

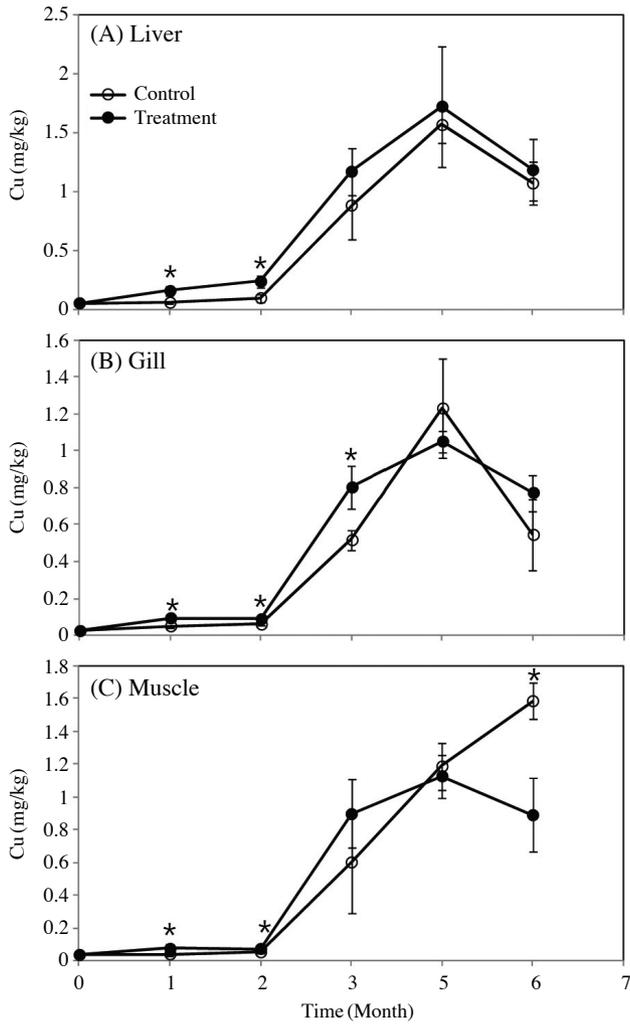


Fig. 3. Copper accumulation in liver, gill and muscle of *Sebastes schlegeli* (2 years old) in control group (without copper alloy mesh) and treatment group (copper alloy mesh) for 6 months (data as mean \pm standard deviation (N=7); significant difference at *P<0.05).

향으로 나타나 GOT와 유사한 경향으로 나타났다. GPT 농도는 전 실험기간 동안 대조구와 실험구 간의 유의한 차이는 나타나지 않았으며 약 5~17 U/L로 서로 비슷한 농도로 나타났다.

혈장 내 암모니아 농도는 실험구의 경우 실험기간 동안 큰 차이를 보이지 않았으며 그 범위는 약 260~348 μ g/dL였다. 대조구는 실험 1개월째는 실험 개시 시보다 약 100 μ g/dL 정도 낮은 248.85 μ g/dL였지만 그 후로 점차 증가하여 실험 4개월째에 385.50 μ g/dL로 가장 높게 나타났으며, 이후 농도가 감소하는 경향이 나타났다. 대조구와 실험구 간의 유의한 차이는 실험 1개월째와 4개월째에 나타났으며 (P<0.05), 실험 1개월째에는 실험구가 99.57 μ g/dL, 실험 2개월째에는 대조구가 118.50 μ g/dL 더 높게 나타났다.

Total cholesterol (TCHO) 농도는 1개월째에는 대조구와

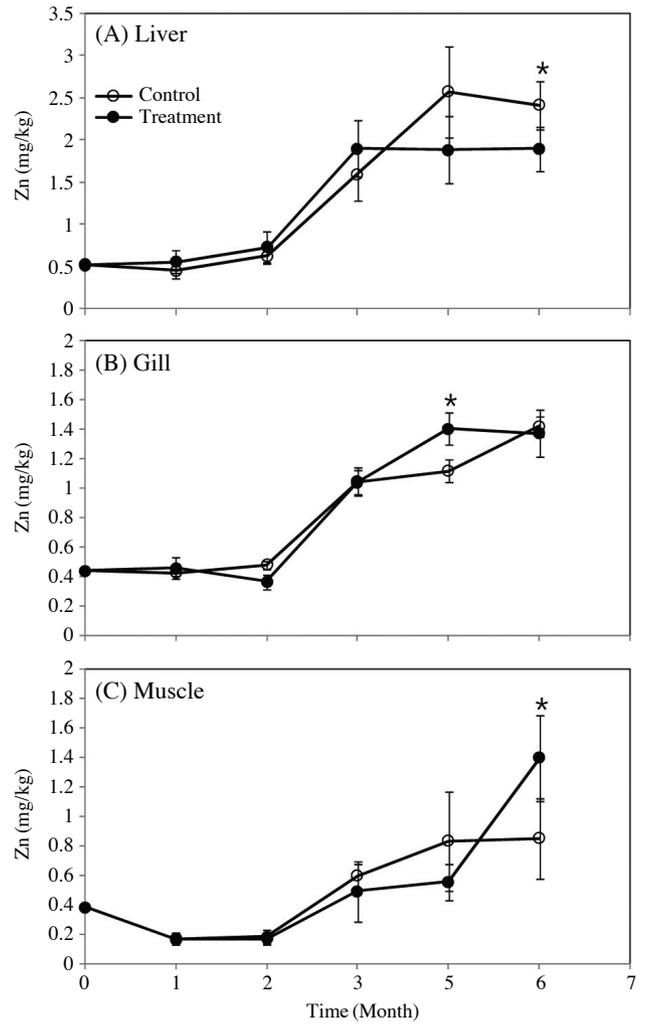


Fig. 4. Zinc accumulation in liver, gill and muscle of *Sebastes schlegeli* (2 years old) in control group (without copper alloy mesh) and treatment group (copper alloy mesh) for 6 months (data as mean \pm standard deviation (N=7); significant difference at *P<0.05).

실험구 모두 실험 개시 시보다 높게 나타났으나 실험구의 경우는 1개월 이후 TCHO 농도가 점차 감소하여 실험 종료 시에는 실험 개시 시보다 약 6 mg/dL 낮은 186.0 mg/dL로 나타났다. 반면에 대조구는 1개월째부터 5개월까지 TCHO 농도가 증가하는 결과가 나타났다. 대조구와 실험구 간의 유의한 차이는 실험 3개월째부터 실험을 종료할 때까지 나타났으며 (P<0.05) 대조구의 농도가 247.20~320.0 mg/dL로 186.00~252.17 mg/dL인 실험구보다 약 50~74 mg/dL 높게 나타났다.

3. 조직 내 중금속 축적

동합금 가두리 망에서 사육한 조피볼락의 기관계에 축적되는 중금속 축적량을 조사하기 위하여 사육 기간에 따른

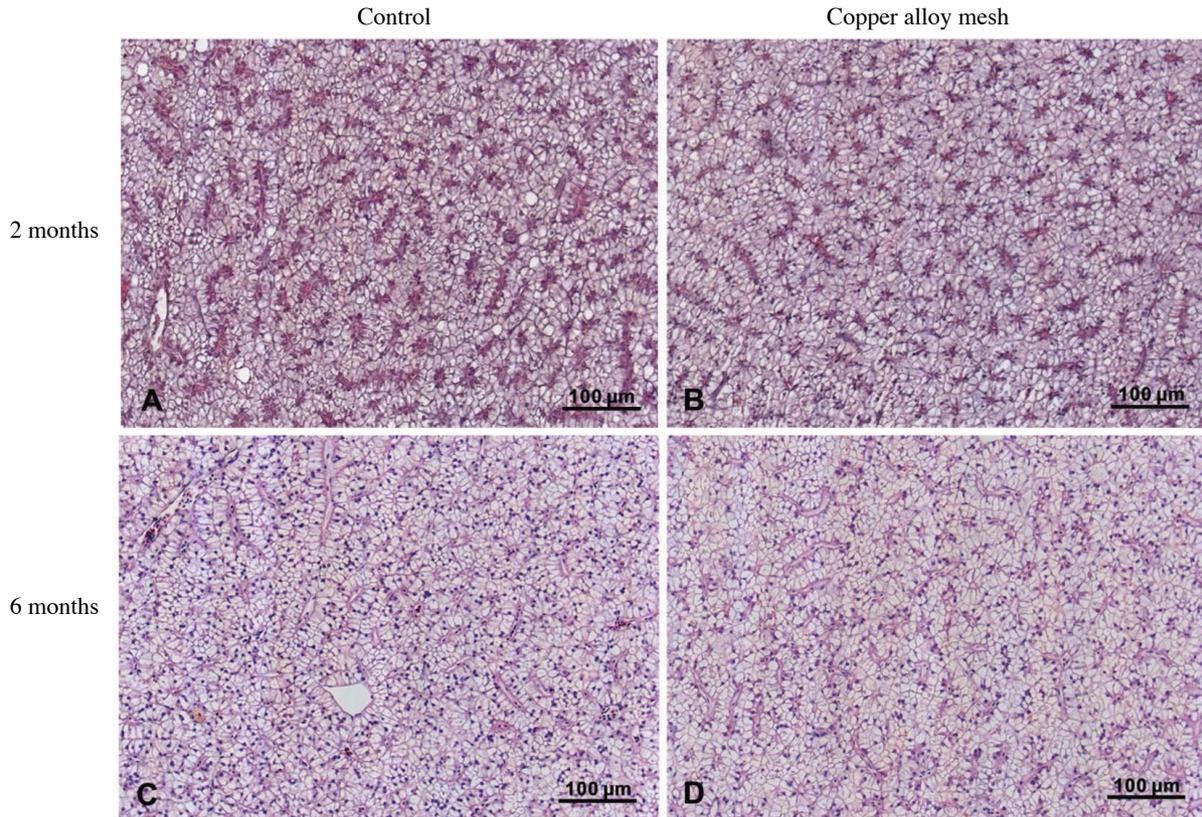


Fig. 5. Histological section of liver in *Sebastes schlegeli* (2 years old) from control group (without copper alloy mesh) and treatment group (copper alloy mesh). A: liver from control group after 2 months of rearing. B: liver from treatment group after 2 months of rearing. C: liver from control group after 6 months of rearing. D: liver from treatment group after 6 months of rearing.

간, 아가미 및 근육 내 구리와 아연의 변화를 분석하였다 (Figs. 3, 4). 간의 구리 농도는 실험 2개월째 대조구와 실험구에서 각각 0.10 mg/kg과 0.24 mg/kg으로 실험 전에 비해서서히 증가하였으며, 실험구가 대조구에 비해 137% 유의하게 높게 나타났다($P < 0.05$). 3개월째부터 대조구와 실험구의 구리 농도가 각각 0.88 mg/kg과 1.17 mg/kg으로 실험 개시기에 비해 대조구는 0.82 mg/kg 실험구는 1.11 mg/kg으로 크게 증가하였다. 구리 농도는 점차 증가하여 실험 5개월째에 대조구와 실험구 모두 각각 1.57 mg/kg과 1.73 mg/kg으로 실험기간 중 가장 높게 나타났으나 6개월째에는 다시 감소하여 3개월째와 비슷한 농도인 1.07~1.18 mg/kg으로 나타났으며 1~2개월째를 제외한 나머지 실험기간 동안 대조구와 실험구 간의 유의한 차이는 나타나지 않았다 (Fig. 3 A). 아가미의 구리 농도는 3개월째 대조구와 실험구 모두 실험 개시 시에 비해 크게 증가하였고 5개월째에 대조구와 실험구가 각각 1.23 mg/kg과 1.05 mg/kg으로 실험기간 중 농도가 가장 높게 나타났으나 6개월째에는 3개월째와 비슷한 수준으로 감소하여 간의 구리농도 변화와 유사한 경향이 나타났다. 실험 3개월까지 구리 농도가 0.09~0.80 mg/kg인 실험구가 0.05~0.06 mg/kg인 대조구에 비해 유의하게 높게

나타났으며 ($P < 0.05$) 나머지 기간 동안은 유의한 차이가 나타나지 않았다 ($P < 0.05$) (Fig. 3B). 근육 내 구리농도는 1~2개월까지는 0.075 mg/kg인 실험구가 0.04~0.05 mg/kg인 대조구보다 유의하게 높게 나타났으며 ($P < 0.05$) 시간이 지날수록 점차 농도가 증가하여 5개월째 대조구와 실험구가 각각 1.19 mg/kg과 0.13 mg/kg으로 실험기간 중 가장 높게 나타났다. 농도가 최대인 5개월째 이후 실험구는 0.089 mg/kg으로 3개월째와 비슷하게 구리 농도가 감소한 반면 대조구는 1.58 mg/kg으로 실험구에 비해 유의하게 높게 나타나 다른 기관의 경향과는 다르게 나타났다 (Fig. 3C).

간의 아연 농도는 대조구와 실험구 모두 3개월째까지는 계속 증가하여 농도가 각각 1.60 mg/kg과 1.90 mg/kg으로 나타났다. 실험구는 3개월째 이후 아연 농도가 1.89~1.90 mg/kg으로 더 이상 증가하지 않았지만 대조구의 경우는 계속 증가하여 5개월째에 2.57 mg/kg으로 최대로 나타났으며 실험 종료 시의 농도가 2.41 mg/kg으로 1.90 mg/kg인 실험구에 비해 유의하게 높게 나타났다 (Fig. 4A). 아가미의 아연 농도는 1개월째는 대조구와 실험구가 각각 0.43 mg/kg과 0.46 mg/kg으로 비슷하게 나타났지만 2개월째는 실험구가 0.37 mg/kg으로 약 0.09 mg/kg 가량 감소하여 0.48 mg/kg인

대조구가 유의하게 높게 나타났다($P < 0.05$). 실험기간 동안 대조구의 아연농도는 점점 증가하는 경향이 나타났으며 실험구는 5개월째에 1.40 mg/kg으로 1.11 mg/kg인 대조구에 비해 유의하게 높았으나($P < 0.05$) 실험 종료 시인 6개월째는 1.37 mg/kg으로 약 0.03 mg/kg 감소한 것으로 나타났다(Fig. 4B). 근육의 아연 농도는 1~2개월까지는 대조구와 실험구가 약 0.17~0.19 mg/kg으로 실험 개시기의 0.38 mg/L보다 농도가 60% 감소하였으나 3개월째부터는 농도가 다시 증가하여 대조구와 실험구 모두 시간이 경과할수록 농도가 높아지는 경향이 나타났다. 또한 실험 종료 시기인 6개월째에 실험구가 1.40 mg/kg으로 대조구의 0.85 mg/kg에 비해 39% 유의하게 높게 나타났다(Fig. 4C).

4. 조직학적 분석

실험 2개월 후 통합금 가두리망에서 사육된 조피볼락의 간은 둥근 다각형의 간세포가 간소엽을 단위로 모여있는 형태로서 간세포의 핵은 매우 뚜렷하였다. 간 조직 내에는 모세혈관과 담관이 잘 발달되어 있었으며 대조구와 비교하였을 때 조직병리학적으로 특이적인 차이가 나타나지 않았다(Fig. 5A, B). 실험 종료시기인 6개월 후 실험구 조피볼락의 간은 간세포의 형태 및 간 조직 내에 존재하는 모세혈관과 담관의 구조가 대조구와 비교하였을 때 특이한 차이를 보이지 않았다(Fig. 5C, D).

고 찰

구리와 아연은 생물체의 항상성 유지를 위한 필수 미량 원소로 구리는 정상적인 면역체계 유지에 기여하고 효소 성분의 구성요소로서 철의 대사에서 헤모글로빈의 합성을 촉진하는 촉매 작용을 한다. 또한 아연은 metalloenzyme의 구성 성분으로서 효소나 호르몬의 cofactor 역할을 하여 어류의 대사작용에 필수적인 역할을 한다(Cousins, 1985; O'Dell, 1976; Vallee and Falchuk, 1993). 적당량의 구리 섭취는 장내 antimicrobial agent의 역할을 하여 어류의 성장과 생존율을 좋게 하지만(Hawbaker et al., 1961; Langlois et al., 1978; Miles et al., 1998) 이러한 필수 금속 역시 독성 잠재력을 가지고 있어 적정 농도까지는 어류의 체내에서 정상적인 기능이 유지되지만 그 한계를 초과하게 되면 독성을 나타내므로(Spear, 1981; Hogstrand and Wood, 1996) 수중의 중금속 농도는 어류의 생존율, 성장, 행동, 생식 그리고 sub-cellular 단계에 이르기까지 다양한 측면에 영향을 준다고 볼 수 있다(Sorensen, 1991; Olsson, 1996; Bury et al., 2002).

일반적으로 수중의 중금속 농도가 일정수준을 초과할 경우 생존율은 감소하게 되는데(Drummond et al., 1973; Collvin, 1985), Sole (*Solea senegalensis*)의 경우 0.1 mg/L 이하의 구

리 농도에서는 폐사하지 않았지만 0.1 mg/L부터 생존율이 구리 농도와 노출 시간이 길어질수록 생존율이 감소한다고 하였고(Oliva et al., 2009), coho salmon (*Fundulus heteroclitus*)은 0.2~0.8 mg/L의 구리 농도에서는 폐사하지 않았다(Ortiz et al., 1999). Small-spotted catshark (*Scyliorhinus canicula*)의 경우 2 mg/L의 구리 농도에서는 폐사하지 않았지만 LC₅₀은 4 mg/L의 농도에서 48시간 노출시켰을 때 나타났다고 하였다(Torres et al., 1987). 또한 무지개송어의 경우 구리에 만성적으로 노출시켰을 시 농도가 증가할수록 생존율이 감소했으며(Chapman, 1999), 아연의 LC₅₀은 약 90 µg/L~40 mg/L라고 보고하였다(Spear, 1981; Bradley and Sprague, 1985). 본 연구에서 조피볼락의 생존율은 2년생의 경우 실험 1개월째까지는 생존율이 대조구와 실험구가 각각 86.67%와 83.75%로 비슷하게 나타났다. 실험구는 실험 1개월 이후 폐사가 일어나지 않아 생존율이 실험 기간 동안 83.75~98.75%로 크게 차이가 나지 않았지만 대조구는 실험 1개월 이후에도 폐사가 일어나 2개월째의 생존율이 78.98%였으며 실험 종료 시 83.75%인 실험구에 비해 약 10% 낮게 나타났다. 1년생의 경우도 실험 1개월째는 대조구와 실험구가 각각 65.00%와 70.00%로 나타났으며 실험 종료 시기인 6개월째의 생존율은 실험구가 70.00%로 대조구보다 높게 나타나 통합금 가두리망은 사육 어류의 생존율 향상시킬 수 있으며 이러한 이유는 구리의 항균 작용에 의한 것으로 여겨진다(SINTEF, 2005).

수중에 용존되어 있는 구리와 같은 중금속은 어류의 조직에 축적되며 축적된 중금속은 superoxide anion (O₂⁻), hydrogen peroxide (H₂O₂) 그리고 hydroxyl radicals (HO)과 같은 활성 산소를 생성하게 되며 이로 인해 세포의 기능상실과 유전자의 변형 그리고 형태적 변이가 일어나 특정 생리적 반응을 변화시키게 되어 성장률의 급격한 감소를 초래하게 된다(Filho, 1996; Rau et al., 2004; Jos et al., 2005). 구리 노출에 의한 성장률 감소는 농어목인 *Perca fluviatilis* (Collvin, 1985)와 틸라피아(*Oreochromis mossambicus*) (James et al., 2000)에 대한 연구에서도 이미 보고된 바 있으며, 또한 붕어 (*Carassius auratus*)와 송사리목인 *Xiphophorus helleri*의 경우(James et al., 2008) 구리 농도가 각각 0.1 mg/L와 0.12~0.16 mg/L일 때 전중과 전장의 증가율이 유의하게 감소하였다. 본 연구 결과 증체율은 대조구와 실험구가 각각 86.97%와 81.46%로 유의한 차이가 나타나지 않았고($P < 0.05$), SGR의 경우도 대조구와 실험구에서 각각 0.315와 0.297로 유의한 차이가 나타나지 않아($P < 0.05$) 통합금 가두리망에서의 구리와 아연 같은 중금속의 유출량은 매우 적어 어류의 성장률에는 영향을 주지 않는 것으로 여겨진다.

중금속은 미량일지라도 먹이연쇄에 의한 생물 농축으로 어류에 축적되어 일정농도를 초과하게 되면 이로 인해 어류는 최적의 건강상태와 성장을 유지 못하게 되며 결국 폐사

에 이를 수 있고(Friberg and Vostal, 1972), 이때의 스트레스에 대한 다양한 생리적인 반응 중 하나로 혈액 성상의 변화가 나타난다(Hodson *et al.*, 1992; Gamperl *et al.*, 1994; Shaw *et al.*, 2012).

Glucose는 어류의 건강 상태의 지표로서 사용되며(Ito and Murata, 1990; Van Raaij *et al.*, 1996) 어류가 스트레스를 받으면 혈중 코티졸 농도가 증가하고 2차 반응으로 glucose가 증가한다(Thomas and Robertson, 1991). 본 연구 결과 glucose 농도는 대조구에서 실험 2개월째에 실험구에 비해 유의하게 높게 나타났으나 3개월째부터 다시 감소하였다. 이 밖에는 전 실험기간 동안 대조구와 실험구의 glucose 농도가 비슷한 경향이 나타났으며 실험구와 대조구 간에 유의한 차이는 나타나지 않았다($P < 0.05$). 또한 스트레스 지표로 사용되는 혈장 내 NH_3 농도도 실험구에서 6개월간 267~348 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 로 실험 개시 시인 349 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 와 비슷하거나 낮게 나타났으며 실험구와 대조구가 각각 1개월째와 4개월째에 유의하게 높게 나타났지만 나머지 기간은 서로 비슷한 경향으로 나타나 동합금 가두리망 사용에 따른 차이는 없으며 동합금 가두리망에서 유출되는 구리와 아연의 양은 극히 적어 어류의 건강도에 악영향을 끼치지 않는다고 여겨진다.

혈장 효소인 GOT와 GPT 농도는 대조구와 실험구에서 모두 4개월째까지는 증가하다가 감소하는 서로 유사한 경향으로 나타났으며 실험 종료 시는 각각 22.75~25.25 U/L와 5.25~6.20 U/L로 실험 개시 시보다 각각 12.89~15.39 U/L와 3.08~4.03 U/L 정도 낮게 나타났다. 이러한 혈장 효소는 간 장애를 반영하는 지표로서 간 세포의 변형이나 괴사와 같은 조직 손상을 나타내며(Shich, 1978; Smith and Ramos 1980), 오염물질에 대한 이들 효소는 간 조직 손상 시 간 기능 장애에 의해 다양으로 혈중으로 유출된다(Takeda *et al.*, 1964). 또 다른 간 기능의 지표인 TCHO는 실험구에서 2개월째까지 증가하다가 다시 감소하는 반면에 대조구는 2개월째 이후도 계속 증가하여 실험 3개월째부터 종료 시까지 실험구에 비해 52~73.6 mg/dL 가량 유의하게 높게 나타나 동합금 가두리망에 의한 TCHO 증가는 나타나지 않았다. 실험구의 혈장 내 GOT와 GPT 그리고 TCHO 농도는 대조구와 큰 차이가 나타나지 않았으며, 또한 간의 구리나 아연 축적량과 조직학적 결과도 대조구와 실험구 간의 특이한 차이가 나타나지 않아 실험에 사용된 동합금 가두리망은 사육 어류의 간 장애를 발생시키지 않는 것으로 여겨진다.

조직 내 구리와 아연 축적량은 간, 아가미, 근육 순으로 높게 나타났으며, 구리에 비해 아연의 축적량이 더 높게 나타나 Kraemer *et al.* (2005)의 결과와 일치하였다. 구리 농도는 실험구가 간과 근육에서 2개월째까지, 아가미에서는 3개월째까지 대조구에 비해 유의하게 높게 나타났다. 그러나 그 이후부터 실험이 끝날 때까지는 유의한 차이가 나타나지 않았고 구리 농도는 실험구와 대조구 모두 5개월째까지 증가

하다가 감소하는 경향이 나타났으며, 또한 아연 축적률도 실험구와 대조구 간 서로 비슷한 경향으로 나타나 본 연구에선 구리와 아연 농도 증가는 실험구뿐만 아니라 대조구에서도 비슷하게 나타났다. 하지만 무지개송어의 경우 3개월간 구리에 만성 노출시켰을 때 간 내 구리 축적률은 실험구가 1.8 $\mu\text{mol}/\text{g}$ 에서 5.0 $\mu\text{mol}/\text{g}$ 으로 크게 증가한 것에 비해 대조구의 구리 축적률은 1.3~2.0 $\mu\text{mol}/\text{g}$ 으로 거의 증가하지 않았고(Handy *et al.*, 1999), 구리 나노입자와 황산구리에 노출 시 조직(아가미, 간, 근육, 장, 뇌) 내 구리 농도의 증가는 실험구에서만 나타났고 대조구에서는 나타나지 않았으며(Shaw *et al.*, 2012), 또한 yellow perch (*Perca flavescens*)의 경우에서도 조직 내 구리와 아연의 축적은 구리와 아연에 노출시킨 실험구에서만 나타나 본 연구 결과와 차이를 보였다(Kraemer *et al.*, 2005). 이러한 차이는 사료 내 포함된 구리와 아연에 의한 것으로 판단되며 앞서 설명한 실험들은 실험 시 구리나 아연을 제거한 사료를 공급하거나 절식한 상태를 유지하였으나 본 연구에서는 구리와 아연을 제거하지 않은 일반 사료를 공급하였기 때문이며 대조구와 실험구 모두 동일한 사료를 공급한 결과 대조구와 실험구의 구리와 아연의 축적량이 유사하게 나타났으므로 실험에 사용된 동합금 가두리망에서 유출되는 중금속의 영향은 미미한 것으로 추정된다.

양식 어류에 있어서 장, 간, 신장 같은 장기의 구리 축적량은 매우 중요하며, 특히 근육 내 중금속 축적량은 어류를 섭취하는 인간의 건강과도 직결되기 때문에 매우 중요하다(Cinier *et al.*, 1999). 6개월간 사육한 조피볼락의 간 내 구리 농도는 대조구와 실험구가 각각 1.07 mg/kg과 1.18 mg/kg으로 구리로 코팅 처리를 한 가두리망으로 사육한 Atlantic salmon (*Salmo salar*)의 간 내 구리 농도인 108~235 mg/kg(Solberg *et al.*, 2002)과 European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)의 117.09 mg/kg(Cotou *et al.*, 2012)에 비해 매우 낮게 나타났으나, 일반망으로 사육한 연어의 4.78 mg/kg(Dean *et al.*, 2007)과는 유사하게 나타났다. 아가미의 구리 농도는 대조구와 실험구에서 각각 0.55 mg/kg과 0.77 mg/kg으로 유의한 차이가 없었으며 일반망으로 사육한 연어의 아가미 내 구리 농도인 0.298 mg/kg과 비슷하게 나타났다(Dean *et al.*, 2007). Solberg *et al.* (2002)은 구리를 칠한 가두리망으로 사육한 *S. salar*와 *P. virens*의 경우 근육 내 구리 농도는 각각 1.67~2.65 mg/kg과 1.77~2.63 mg/kg으로 나타나 대조구(*S. salar*, 1.90 mg/kg; *P. virens*, 2.91 mg/kg)와 유의한 차이가 없다고 하였으며, Cotou *et al.* (2012)은 구리 성분의 antifouling paint를 입힌 가두리망에서 사육한 *D. labrax*의 근육 내 구리 농도는 1.55 mg/kg으로 1.32 mg/kg인 대조구와 유의한 차이가 없다고 하여 본 연구의 결과와 유사하게 나타났다. 또한, 아연 농도는 근육의 경우 실험 종료 시 실험구가 1.40 mg/kg으로 0.85 mg/kg인 대조구에 비해 유의하게 높게 나

타났지만 아가미의 아연 농도는 대조구와 실험구에서 각각 1.42 mg/kg과 1.37 mg/kg으로 비슷하게 나타났으며 일반 가두리망에서 사육한 연어의 근육과 아가미의 아연 농도가 각각 4.48 mg/kg과 159.68 mg/kg (Dean *et al.*, 2007)인 것에 비해 매우 낮았다. 이러한 축적률의 차이는 수질, 먹이, 수온, 유속 등과 같은 환경의 차이 때문으로 판단되며 (McCarter and Roch, 1984; Andres *et al.*, 2000), 본 연구의 구리와 아연 축적량은 대조구와 실험구가 유사하였고 그 축적량도 매우 낮게 나타나 통합금 가두리망에 의한 조직 내 심각한 중금속 축적은 없는 것으로 여겨진다.

간은 중금속에 의한 건강도 분석 시 장기의 조직학적 변화를 관찰하는 데 사용되는 대표적인 기관이며 (Collvin, 1984), 어류에서도 중금속은 주로 간에서 농축되어 다른 기관계보다 생물축적과 해독 작용이 비교적 높게 나타난다 (Roesijadi and Robinson, 1994). 과량의 중금속 섭취 시 간 조직의 변형이 일어나게 되는데 (Buckley *et al.*, 1982; Arellano *et al.*, 1999), 구리 농도가 0.1~1 mg/L일 때 *S. senegalensis*의 간 실질 변형이 일어나며 (Oliva *et al.*, 2009), *F. heteroclitus*의 경우는 0.8 mg/L일 때 간 조직의 변형이 일어난다 (Ortiz *et al.*, 1999). 본 연구에서 통합금 가두리망에서 6개월간 사육한 실험구의 간 조직은 대조구와 비교해 특이적인 차이가 나타나지 않아 통합금 가두리망 사육에 따른 중금속에 의한 간의 손상은 없는 것으로 여겨진다.

통합금망은 부착 생물 방지나 내구성은 뛰어나지만 통합금망에서 많은 양의 중금속이 수중으로 유출될 경우 사육 어류의 건강도와 성장에 악영향을 주게 된다. Cotou *et al.* (2012)은 antifouling paint (Flexgard™ VI)를 입힌 가두리망을 설치한 250 L 원통형 유리 섬유 수조에 European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)를 수용하여 구리에 대한 단기 독성 노출 실험을 한 결과 수조 내 구리의 농도는 48시간 동안은 70~315 µg/L였으나 72시간 후 유출 농도가 200 µg/L로 감소하여 실험 기간 동안 184~187 µg/L로 유지되었다고 하였다. 이때 사용된 biomarker 중 *D. labrax*의 hemoglobin 농도와 lysozyme 활성도는 antifouling paint를 처리한 실험구가 대조구에 비해 유의하게 높게 났으나 본 연구에서는 통합금 가두리망에 따른 대조구와 실험구 간의 혈액 성상의 뚜렷한 차이는 나타나지 않았으며, 간과 근육 내의 구리와 아연 농도도 훨씬 낮게 나타났다. 따라서 본 연구에서 실험기간 동안 사육수의 중금속 농도는 측정되지 않았지만 더 적을 것으로 판단되며, 이는 일반 가두리망에 antifouling paint를 입힌 것이 아닌 통합금을 사용하여 망을 제작하였기 때문으로 생각되며, 다른 연구에서도 통합금망 (UR30, 25 mm)보다 antifouling paint 처리를 한 나일론 망에서 구리 유출량이 더 많다고 보고하였다 (SINTEF, 2005).

본 연구 결과 생존율은 실험구가 높았으며 성장률, 혈액 성분 그리고 간의 조직학적 결과에서 실험구와 대조구 간의

뚜렷한 차이가 나타나지 않았다. 또한, 통합금 가두리망에서 사육한 실험구의 각 조직 내 구리와 아연 축적량은 실험 초기에 비해 증가하였으나 대조구와 유의한 차이가 나타나지 않았으며, 구리의 허용기준치 (30 mg/kg, MAFF, 1995; 30 mg/kg, FAO, 2010; 20 mg/kg, Türkmen *et al.*, 2008)와 아연의 허용기준치 (30 mg/kg, FAO, 2010; 50 mg/kg, Türkmen *et al.*, 2008)에 비해 매우 낮게 나타나 본 연구에 사용된 통합금 가두리망은 어류의 성장과 건강도에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

요 약

통합금 가두리망에 6개월간 사육한 조피볼락을 대상으로 통합금 가두리 망에서 유출되는 물질이 어류의 생존, 성장 및 건강도에 미치는 영향을 조사하였다. 대조구와 실험구 간의 생존율과 성장률 그리고 혈액 성분은 유의한 차이가 없었으며 (P<0.05), 간세포의 형태 및 간 조직 내에 존재하는 모세혈관과 담관의 구조가 특이적인 차이를 보이지 않았다. 구리와 아연 축적량은 실험 초기에 비해 증가하였지만 실험구와 대조구 간의 차이가 없었으며 허용기준치에 비해 매우 낮게 나타나 본 연구에 사용된 통합금망은 어류의 생존, 성장 및 건강도에 영향을 끼치지 않는 것으로 여겨진다.

사 사

본 연구는 국립수산과학원 수산시험연구 “환경변화에 따른 양식생물 연구” (RP-2014-AG-044)의 지원에 의해 수행되었습니다.

인 용 문 헌

- Andres, S., F. Ribeyre, J.N. Tourencq and A. Boudou. 2000. Inter-specific comparison of cadmium and zinc contamination in the organs of four fish species along a polymetallic pollution gradient (Lot River, France). *Sci. Tot. Environ.*, 248: 11-25.
- Arellano, J.M., V. Storch and C. Sarasquete. 1999. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegal sole, *Solea senegalensis*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 44: 62-72.
- Bradley, R.W. and J.B. Sprague. 1985. The influence of pH, water hardness, and alkalinity on the acute lethality of zinc to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42: 731-736.

- Buckley, J.T., M. Roch, J.A. McCarter, C.A. Rendell and A.T. Matheson. 1982. Chronic exposure of coho salmon to sublethal concentrations of copper, and on copper tolerance. *Comp. Biochem. Physiol. C.*, 72: 15-19.
- Bury, N.R., P.A. Walker and C.N. Glover. 2002. Nutritive metal uptake in teleost fish (Review). *J. Exp. Biol.*, 206: 11-23.
- Canli, M. and G. Atli. 2003. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ. Pollut.*, 121: 129-136.
- Chapman, G.A. 1999. An acute TRV for Rainbow trout and Bull trout. Report prepared for the Montana Natural Resources Damage Program, Helena, MT, USA.
- Cinier, C.C., M. Petit-Ramel, R. Faure, D. Garin and Y. Bouvet. 1999. Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* tissues. *Comp. Biochem. Physiol.*, 122: 345-352.
- Collvin, L. 1984. Uptake of copper in gills and liver of perch, *Perca fluviatilis*. *Ecol. Bull. (Stockholm)*, 36: 57-61.
- Collvin, L. 1985. The effect of copper on growth, food consumption and food conversion of perch *Perca fluviatilis* L. offered maximal food rations. *Aquat. Toxicol.*, 6: 105-113.
- Cotou, E., M. Henry, C. Zeri, G. Rigos, A. Torreblanca and V.A. Catsiki. 2012. Short-term exposure of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* to copper-based antifouling treated nets: Copper bioavailability and biomarkers responses. *Chemosphere*, 89: 1091-1097.
- Cousins, R.J. 1985. Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol. Rev.*, 65: 238-309.
- Dean, R.J., T.M. Shimmield and K.D. Black. 2007. Copper, zinc and cadmium in marine cage fish farm sediments: An extensive survey. *Environ. Pollut.*, 145: 84-95.
- Drummond, R.A., W.A. Spoor and G.F. Olson. 1973. Some short-term indicators of sublethal effects of copper on brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *J. Fish Res. Board Can.*, 30: 698-701.
- Efird, K.D. and D.B. Anderson. 1975. Sea Water Corrosion of 90-10 and 70-30 Cu-Ni: 14 Year Exposures. *Materials Performance*, 14: 37-40.
- FAO/WHO. 2010. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Summary report of the seventy-third meeting of JECFA in the WHO Technical Report Series, Geneva, Switzerland, 12-13.
- Filho, W. 1996. Fish antioxidant defenses. A comparative approach. *Braz. J. Med. Bio. Res.*, 29: 1735-1742.
- Friberg, L. and J. Vostal. 1972. Mercury in the environment. In: Friberg, L. and J. Vostal (eds.), *An epidemiological and toxicological appraisal*. CRS Press, Cleveland, pp. 29-90.
- Furness, R.W. and P.S. Rainbow. 1990. Heavy metals in the marine environment. CRC press, Florida.
- Gamperl, A.K., M.M. Vigayan and R.G. Boutilier. 1994. Experimental control of stress hormone levels in fishes: techniques and applications. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 4: 215-255.
- Handy, R.D., D.W. Sims, A. Giles, H.A. Cambell and M.M. Musonda. 1999. Metabolic trade-off between locomotion and detoxification for maintenance of blood chemistry and growth parameters by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chronic dietary exposure to copper. *Aquat. Toxicol.*, 47: 23-41.
- Hawbaker, J.A., V.C. Speer, V.W. Hays and D.V. Catron. 1961. Effect of copper sulfate and other chemotherapeutics in growing swine rations. *J. A. Sci.*, 20: 163-167.
- Hodson, P.V., M. McWhirter, K. Ralph, B. Gray, D. Thivierge, J.H. Carey, G. Van-Der-Kraak, D.M. Whittle and M.C. Levesque. 1992. Effects of bleached kraft mill effluent on fish in the St. Maurice River, Quebec. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11: 1635-1651.
- Hogstrand, C. and C.M. Wood. 1996. The physiology and toxicology of zinc in fish. In: Taylor, E.W. (ed.), *Toxicology of Aquatic Pollution: Physiological, Cellular and Molecular Approaches*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 61-84.
- Huguenin, J.E. and F.J. Ansuini. 1975. The advantages and limitations of using copper materials in marine aquaculture. *Proceedings of the OCEAN 75 Conference, Marine Technology Society, San Diego, CA, USA*, pp. 444-453.
- Ito, Y. and T. Murata. 1990. Changes in glucose, protein contents and enzyme activities of serum in carp administered orally with PCB. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 46: 465-468.
- James, R., K. Sampath and P. Selvamani. 2000. Effect of ion-exchanging agent zeolite on removal of copper in water and improvement of growth in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Asian Fish. Sci.*, 13: 317-325.
- James, R., K. Sampath, S. Jothilakshmi, I. Vasudhevan and R. Thangarathinam. 2008. Effects of copper toxicity on growth, reproduction and metal accumulation in chosen ornamental fishes. *Ecohydrol. Hydrobiol.*, 8: 89-97.
- Jos, Á., S. Pichardo, A.I. Prieto, G. Repetto, C.M. Vázquez, I. Moreno and A.M. Cameán. 2005. Toxic cyanobacterial cells containing microcystins induce oxidative stress in exposed tilapia fish (*Oreochromis* sp.) under laboratory conditions. *Aquat. Toxicol.*, 72: 261-271.
- Kirk, R.S. and J.W. Lewis. 1993. An evaluation of pollutant induced changes in the gills of rainbow trout using scanning electron microscopy. *Environ. Technol.*, 14: 577-585.
- Kirchgeßner, M. and F.J. Schwarz. 1986. Mineral content (major and trace element) of carp (*Cyprinus carpio* L.) fed with different protein and energy supplies. *Aquaculture*, 54: 3-9.
- Kraemer, L.D., P.G. Campbell and L. Hare. 2005. Dynamics of Cd, Cu and Zn accumulation in organs and sub-cellular fractions in field transplanted juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). *Environ. Pollut.*, 138: 324-337.
- Langlois, B.E., G.L. Cromwell and V.W. Hays. 1978. Influence of type of antibiotic and length of antibiotic feeding period on performance and persistence of antibiotic resistant enteric bacteria in growing-finishing swine. *J. Ani. Sci.*, 46: 1383-

- 1396.
- Lewis, A.G. and A. Metaxas. 1991. Concentrations of total dissolved copper in and near a copper-treated salmon net pen. *Aquaculture*, 99: 269-276.
- Lorentzen, M., A. Maage and K. Julshamn. 1998. Supplementing copper to a fish meal based diet fed to Atlantic salmon parr affects liver copper and selenium concentrations. *Aquaculture Nutrition*, 4: 67-77.
- MAFF. 1995. Monitoring and Surveillance of Non-radioactive Contaminants in the Aquatic Environment and Activities Regulating the Disposal of Wastes at Sea, Directorate of Fisheries Research, Lowestoft, Aquatic Environment Monitoring Report No.44.
- McCarter, J.A. and M. Roch. 1984. Chronic exposure of coho salmon to sub-lethal concentrations of copper. III. Kinetics of metabolism of metallothionein. *Comp. Biochem. Physiol.*, 77: 83-87.
- Miles, R.D., S.F. O'Keefe and P.R. Henry. 1988. The effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and dietary prooxidant activity. *Poultry Science*, 77: 416-425.
- O'Dell, B.L. 1976. Biochemistry of copper. Symposium on trace elements. *The Medical clinics of North America*, 60: 697-703.
- Oliva, M., M.C. Garrido, D. Sales Márquez and M.L. González de Canales. 2009. Sublethal and lethal toxicity in juvenile Senegal sole (*Solea senegalensis*) exposed to copper: A preliminary toxicity range-finding test. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 61: 113-121.
- Olsson, P.E. 1996. Metallothioneins in fish: induction and use in environmental monitoring. In: Taylor, E.W. (ed.), *Toxicology of Aquatic Pollution*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 187-204.
- Ortiz, J.B., M.L. González de Canales and C. Sarasquete. 1999. Quantification and histopathological alterations produced by sub-lethal concentrations of copper in *fundulus heteroclitus*. *Ciencias Marinas*, 25: 119-143.
- Paul, J.D. and I.M. Davies. 1986. Effects of copper- and tin-based anti-fouling compounds on the growth of scallops (*Pecten maximus*) and oysters (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, 54: 191-203.
- Peterson, L.K., J.M.D. Auria, B.A. McKeown, K. Moore and M. Shum. 1991. Copper levels in the muscle and liver tissues of farmed Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture*, 9: 105-115.
- Powell, C. and H. Stillman. 2009. Corrosion Behavior of Copper Alloys used in Marine Aquaculture. International Copper Association (ICA), http://www.copper.org/applications/cuni/pdf/marine_aquaculture.pdf (Retrieved October 15, 2010).
- Rau, M.A., J. Whitaker, J.H. Freedman and R.T.D. Giulio. 2004. Differential susceptibility of fish and rat liver cells to oxidative stress and cytotoxicity upon exposure to prooxidants. *Comp. Biochem. Physiol.*, 137: 335-342.
- Roesijadi, G., W.E. Robinson. 1994. Metal regulation in aquatic animals: mechanisms of uptake, accumulation and release. In: Malins, D.C. and G.K. Ostrander (eds.), *Aquatic toxicology*. Boca Raton: Lewis Publishers, pp. 387-420.
- Shaw, B.J., G. Al-Bairuty and R.D. Handy. 2012. Effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Physiology and accumulation. *Aquat. Toxicol.*, 116-117: 90-101.
- Shich, M.S. 1978. Changes of blood enzymes in brook trout induced by infection with *Aeromonas salmonicida*. *J. Fish Biol.*, 11: 13-18.
- SINTEF report. 2005. Application of brass net cages in Norwegian aquaculture-environmental analysis, Project number 840145.
- Smith, A.C. and F. Ramos. 1980. Automated chemical analysis in fish health assessment. *J. Fish Biol.*, 17: 445-450.
- Solberg, C.B., L. Sæthre and K. Julshamn. 2002. The effect of copper-treated net pens on farmed salmon (*Salmo salar*) and other marine organisms and sediments. *Mar. Pollut. Bull.*, 45: 126-132.
- Sorensen, E.M. 1991. *Metal Poisoning in Fish*. CRC Press, Inc., Boca Raton. pp. 374.
- Spear, P.A. 1981. Zinc in the Aquatic Environment: Chemistry, Distribution, and Toxicology. National Research Council of Canada, NRCC Associate Committee on Scientific Criteria for Environmental Quality, Environmental Secretariat, Ottawa.
- Takeda, Y., A. Ichihara, H. Tanioka and H. Inoue. 1964. The Biochemistry of animal cells: I. The effect of corticosteroids on leakage of enzymes from dispersed rat liver cells. *J. Biol. Chem.*, 239: 3590-3596.
- 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.
- Torres, P., L. Tort and R. Flos. 1987. Acute toxicity of copper to Mediterranean dogfish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86: 169-171.
- Tsukrov, I., A. Drach, J. DeCew, M.R. Swift and B. Celikkol. 2011. Characterization of geometry and normal drag coefficients of copper nets. *Ocean Engineering*, 38: 1979-1988.
- Türkmen, M., A. Türkmen and Y. Tepe. 2008. Metal contaminations in five fish species from Black, Marmara, Aegean and Mediterranean Seas. Turkey, *J. Chilean Chem. Soc.*, 53: 1435-1439.
- Vallee, B.L. and K.H. Falchuk. 1993. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological Reviews*, 73: 79-118.
- Van Raaij, M.T.M., G.E.E.J.M. Van den Thillart, G.J. Vianen, D.S.S. Pit, P.H.M. Balm and A.B. Steffens. 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.
- Watanabe, T., V. Kiron and S. Satoh. 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151: 185-207.
- Ytreberg, E., J. Karlsson and B. Eklund. 2010. Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from antifouling paints leached in natural and artificial brackish seawater. *Sci. Total Environ.*, 408: 2459-2466.