



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

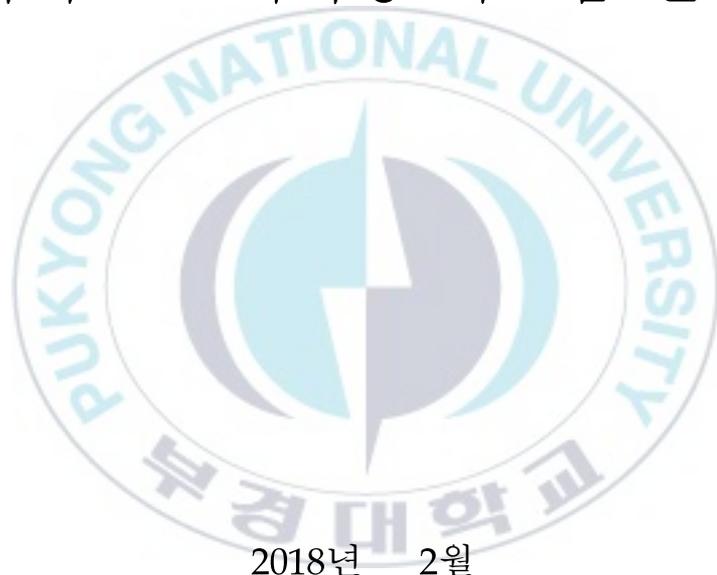
저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

참굴(*Crassostrea gigas*)의 패각운동을 활용한
바이오 모니터링 시스템 연구



2018년 2월

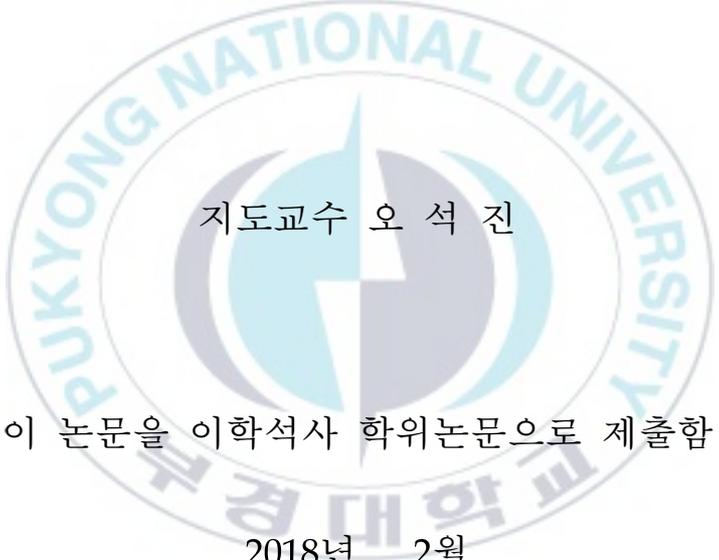
부 경 대 학 교 대 학 원

해 양 학 과

문 수 연

이 학 석 사 학 위 논 문

참굴(*Crassostrea gigas*)의 패각운동을 활용한
바이오 모니터링 시스템 연구



지도교수 오 석 진

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함

2018년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

해 양 학 과

문 수 연

문수연의 이학석사 학위논문을 인준함.

2018년 2월 23일



주 심 이학박사 윤석현 (인)

위 원 이학박사 양한섭 (인)

위 원 이학박사 오석진 (인)

목 차

List of Figures	iii
Abstract	vii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	7
1. 참굴 시료	7
2. 미세조류 세포배양	8
3. 패각운동(Shell-Valve Movements; SVMs) 측정방법	10
4. 환경요인에 따른 참굴의 패각운동(수조실험)	12
4-1. 실험수조 및 환경조건	12
4-2. 수온 노출실험	14
4-3. 염분 노출실험	14
4-4. 빈산소 노출실험	15
4-5. 미세조류 노출실험	16
5. 이상해양현상에 따른 참굴의 패각운동(현장실험)	18
5-1. 2016년 하계(빈산소수 형성 시)	18
5-2. 2017년 하계(적조발생 시)	18
III. 결과 및 고찰	20
1. 참굴(<i>Crassostrea gigas</i>)의 일반적인 패각운동 특성	20
2. 환경요인에 따른 참굴의 패각운동 변화특성 결과(수조실험)	26
2-1. 수온 노출실험 결과	26

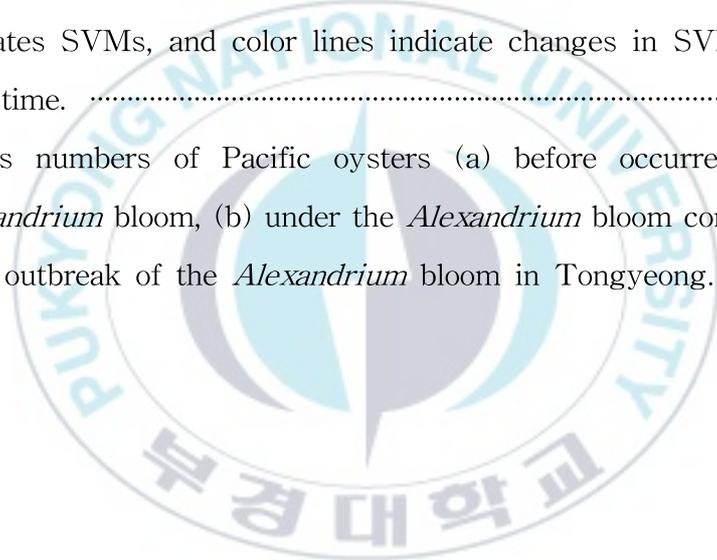
2-2. 염분 노출실험 결과	34
2-3. 빈산소 노출실험 결과	42
2-4. <i>Isochrysis galbana</i> 노출실험 결과	51
2-5. <i>Alexandrium fundyense</i> 및 <i>A. affine</i> 노출실험 결과	55
2-6. <i>Cochlodinium polykrikoides</i> 노출실험 결과	61
3. 이상해양현상에 따른 참굴의 패각운동 변화특성 결과(현장실험)	67
3-1. 참굴의 일반적인 패각운동 특성	67
3-2. 2016년 하계(빈산소수 형성 시)	70
3-3. 2017년 하계(적조발생 시)	75
IV. 결론	79
V. 감사의 글	83
VI. 참고문헌	84

List of Figures

1. Light microscope photographs of (a) <i>Isochrysis galbana</i> (b) <i>Alexandrium fundyense</i> (b) <i>Alexandrium affine</i> (d) <i>Cochlodinium polykrikoides</i>	9
2. Hall element sensor for sensing abnormal environments	11
3. Measuring principle of SVMs of Pacific oysters.	11
4. Schematic diagram of the experimental design model for detecting abnormal environments.	13
5. Location of the research station (a) in 2016, (b) in 2017.	19
6. SVMs of Pacific oysters under experimental container.	24
7. SVM patterns of Pacific oysters (a; this study), Pearly oysters (b; Nagai, 2006), short necked clams (c; Nagai, 2006).	25
8. SVMs of Pacific oysters in response to change of water temperature. (a) Case 1, (b) Case 2.	31
9. SVMs number of Pacific oysters in response to change of water temperature.	32
10. SVMs of Pacific oysters in response to increase of water temperature.	33
11. SVMs of Pacific oysters in response to change of salinity.	38
12. SVMs number of Pacific oysters in response to change of salinity.	39
13. SVMs of Pacific oysters in response to low salinity(15 psu) (a) with 15°C, (b) with 30°C.	40
14. SVMs number of Pacific oysters under low salinity in response to water temperature.	41

15. SVMs of Pacific oysters in response to change of Pacific oysters in response to change of DO concentration.	47
16. SVMs number of Pacific oysters under normal and hypoxia condition.	48
17. SVMs of Pacific oysters in response to hypoxic water (a) with 15°C, (b) with 30°C.	49
18. SVMs number of Pacific oysters under hypoxic water in response to water temperature.	50
19. SVMs of Pacific oysters in response to change of <i>Isochrysis galbana</i> cell density.	53
20. SVMs number of Pacific oysters in response to change of <i>Isochrysis galbana</i> cell density.	54
21. SVMs of Pacific oysters in response to change of (a) <i>Isochrysis galbana</i> , (b) <i>Alexandrium fundyense</i> , (c) <i>Alexandrium affine</i> cell density.	59
22. SVMs number of Pacific oysters in response to change of (a) <i>Alexandrium fundyense</i> , (b) <i>Alexandrium affine</i> cell density.	60
23. SVMs of Pacific oysters in response to <i>Cochlodinium polykrikoides</i> at (a) 10 cells ml ⁻¹ , (b) 100 cells ml ⁻¹ , (a) 1000 cells ml ⁻¹	64
24. SVMs number of Pacific oysters in response to change of <i>Cochlodinium polykrikoides</i> cell density.	65
25. SVMs number of Pacific oysters according to experiment species.	66
26. Normal SVMs of (a) laboratory experiment and field experiment (b) in 2016, (c) in 2017	69

27. SVMs and Environmental data in Gamak Bay during field experiment. (a) Water temperature, (b) Salinity, (c) Tide level, (d) DO, (e) and (f) is the SVMs.	73
28. SVMs number of Pacific oysters before and after exposure to hypoxic water.	74
29. SVMs of Pacific oysters (a) before occurrence of the <i>Alexandrium</i> bloom, (b) under the <i>Alexandrium</i> bloom conditions, (c) after outbreak of the <i>Alexandrium</i> bloom in Tongyeong. The black line indicates SVMs, and color lines indicate changes in SVMs number over time.	77
30. SVMs numbers of Pacific oysters (a) before occurrence of the <i>Alexandrium</i> bloom, (b) under the <i>Alexandrium</i> bloom conditions, (c) after outbreak of the <i>Alexandrium</i> bloom in Tongyeong.	78



Study on the Bio-Monitoring System using Shell Valve Movements of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)

Suyeon Moon

Department of Oceanography, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Abnormal marine environment causes fisheries damage in aquaculture farms. the occurrences and damage scale tends to increase annually. Ocean observation buoy is operating in major aquaculture farms for detecting changes in coastal environments in Korea. While these physico-chemical methods give usually may well defined answers, they do not reflect real biological harm. Organisms will react to environmental stimulus, the reaction of organism is directly related to the fisheries damage. Therefore, we tested Biological Monitoring System (BMS) using the organism's responses. The species to be tested is the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Mollusca: Bivalvia) which accounts for the highest production of shellfish culture in Korea, and the Shell Valve Movements (SVMs) of oysters were measured by the organism's responses. The first purpose of this study is to investigate the characteristics of general SVMs of oysters and changes of SVMs according to abnormal environmental factors, which are high water temperature, low salinity water, hypoxic waters, and Harmful Algal Bloom (HAB). The second is to obtain abnormal patterns, which are different from general SVMs. The final goal is to verify the possibility of BMS through field experiments.

Oysters rapidly closed their valve, and gradually started to open their valve in the laboratory and in the field. It was transiently transposed from the

opened-valve condition to the closed-valve condition. Then it took 10 minutes to return to the original state. This was different from other bivalves species, and the above SVMs pattern was regarded as a typical SVMs of Pacific oyster. In other characteristics, the oyster had a resting state in which the valves were kept closed for a certain time in both laboratory and field. In laboratory, the time and duration of the resting state were different depending on the individuals. In the field, the resting state observed in the field seemed to have periodicity, and lasted for about 1 hour and was observed at a high rate during the low tide period. It seems that the external factors in the field, such as tide rhythm, seem to have affected the SVMs of oyster. It is considered that there is no problem in applying the abnormal pattern to the field because the resting state has weak periodicity and does not induce changes in SVMs. This normal SVMs of oysters captured through experiment was used as a criterion to judge the abnormal pattern.

As a result of water temperature exposure experiment, the oysters were kept closed valve condition at low temperature (5°C), and the SVMs tended to be active in response to water temperature increase at 10, 20 and 30°C. Especially at 20°C and 30°C, it was 2 ~ 3 times and 4 times more active, respectively, than the normal SVMs of oysters in this study. The subsequent increase in water temperature induced the valve closure. This is due to the limit of water temperature tolerance, which resulted in the reduction of metabolism in oysters and thus the selection of the closed-valve condition to reduce energy metabolism. The oysters closed their valves at extreme temperature, and SVMs became active with increasing water temperature. Influence of increased temperature and acclimation temperature can not be excluded, but the increase in water temperature within the limit range has the effect of activating SVMs. Through the experiment, the increasing SVMs was defined as an abnormal pattern indicating high water temperature.

In the salinity exposure experiment, there was no difference between the normal SVMs and the SVMs at 20 and 30 psu, and the closed state at 10, 0 psu.

Salinity in the range of 20 ~ 30 psu did not affect shell movement of oyster. it is considered that the oyster closed their valves in low salinity waters below 10 psu to protect the organism from the extreme environment. In the low salinity waters (15 psu) at 15°C, the oysters showed a closed-valve condition for 5 ~ 10 hours, but showed intermittent opening action and slowed down SVMs to feeding and respiration. At this time, the SVMs velocity is decreased by about twice as compared with the normal SVMs. In the low salinity waters (15 psu) at 30°C, There were combination of SVMs at high water temperature(30°C) and low salinity waters (15 psu) at 15°C. The closed-valve condition lasted 0.2 ~ 1 hours, the SVMs speed was 3 times slower than at the high water temperature, and 3 times faster than the 15°C low salinity waters. SVMs combined with the characteristics of SVMs at low salinity waters and high water temperature, and the signal of the physiological crisis situation of the oyster was clearly shown. As a result, the repetitive behaviors of slow down SVMs and valve closure were determined as abnormal patterns indicating low salinity waters.

Oysters showed a 5 times faster SVMs than the normal SVMs as the dissolved oxygen decreased to less than 3 O₂ mg l⁻¹. Exposure to free hypoxic waters (< 2 O₂ mg l⁻¹) resulted in valve closure. This SVMs pattern was observed in both the laboratory and the field of 2016. It seemed that oysters increase the SVMs to maintain oxygen consumption when dissolved oxygen is reduced, and that the valve closure responds to maintain a reduced energy requirement once the oxygen threshold is reached. The increase of the SVMs with dissolved oxygen decrease and the subsequent valve closure were regarded as abnormal patterns indicating hypoxic environment. Especially, a series of closing action when exposed to hypoxic environment is considered to be an outstanding bio-indicator for the detection of hypoxic environment.

As a results of exposure to microalgae, it showed no change of SVMs in *I. galbana*, which was used as a control. On the other hand, When oysters were exposed to *Alexandrium affine* and *A. affine* at the cell densities of 100 and 500

cell ml⁻¹, the pattern of SVMs immediately exhibited with frequent spikes. The increase of SVMs with increasing cell density of *Alexandrium* was intensively observed at cell injection, suggesting that the oysters was sensitive to *Alexandrium*. In field experiment of 2017, SVMs were increased when the cell density of *Alexandrium* bloom in the field increased. This is similar to the abnormal pattern observed in laboratory experiments.

The major characteristics of *C. polykrikoides* exposure experiment was that oysters had longer duration of the closed-valve condition with increasing cell density. at 100 cells ml⁻¹ showed about 40% and 1000 cells ml⁻¹ showed about 60% of the closed-valve condition. In addition, there was a marked reduction in gap between the valves before the valve closure and a deep and uneven SVMs. This is also an unobserved result in *I. galbana*, the control. This suggests that qualitative detection of *C. polykrikoides* is possible. The warning criteria of *C. polykrikoides* bloom in National Fisheries Research and Development Institute is 100 cells ml⁻¹ or 1000 cells ml⁻¹. it would be helpful to reduce the damage caused by *C. polykrikoides*.

From the above results, abnormal patterns with environmental stimuli were obtained. We confirmed the possibility of BMS using SVMs of *Crassostrea gigas*. Particularly, the obtained results suggested that oysters may serve as excellent bio-indicators for hypoxic waters and low salinity waters. In the case of HAB, abnormal patterns in *Alexandrium* sp. could be used to reduce PSP damage in spring and abnormal pattern that indicates *C. polykrikoides* bloom seem to be a great bio-indicator. If the abnormal pattern derived from this study is used successfully, it is expected that the fisheries damage will be reduced by the early warning to abnormal marine environments.

I. 서론

인구증가에 따른 식량문제, 수산자원고갈 및 환경문제에 따라 전 세계적으로 양식산업에 대한 중요성이 인식되고 있다. 우리나라도 양식어업의 생산량이 어업생산량의 60% 이상이며(MOF, 2016), 패류와 해조류가 전체 양식생산량의 약 90%를 차지하고 있다(해양수산통계연보, 2016). 하지만, 양식장의 밀식, 노후화, 그리고 연안환경변화 등에 의해 1990년대 이후 생산성이 감소하고 있는 추세다(배 등 2001). 특히 연안 환경변화에 따라 발생하는 국내 수산업 피해는 해마다 발생횟수와 피해의 규모가 증가하는 실정이다. 우리나라 연안에서 수산업 피해를 유발하는 이상해황은 고수온, 빈산소수(hypoxic water), 그리고 저염수 및 유해 조류 대발생(Harmful Algal Blooms, HAB) 등이 있다.

수온은 생물의 서식지를 결정하고 생물다양성에 영향을 미치는 대표적인 환경요인이며, 특히 체내 대사 생리 조절을 위해 외부 열에너지에 의존하는 변온동물(poikilotherms)은 성장과 생식 등의 전 생활사에 걸쳐 직접 영향을 받는다(Ngo et al., 2002; Angilletta et al., 2004). Kim et al.(2013)은 가막만 양식 굴이 지속적으로 고수온 환경에 노출되면 대량폐사하게 되는 것으로 보고하였고, Choi and Choi(2014)는 기후변화로 인한 수온 상승은 굴 양식생산량을 감소시켜 경제적 손실을 가져올 수 있음을 시사했다. 또한, 우리나라는 최근 3년 동안 폭염일수가 급증하고 있어, 그에 따른 고수온 현상으로 연안 양식장 피해가 우려된다.

하계에 발생하는 빈산소수는 부영양화환경 하에서 강한 성층이 형성되었을 때 발생하는 정상적인 용존산소 조건보다 낮은 산소를 포함하고 있는 수괴를 의미하며, 빈산소수 기준에 있어 논란의 여지가 있으나 일반적

으로 용존산소 농도가 2 mg l^{-1} 이하의 상태를 의미한다. 수하식 양식생물들은 조석에 의해 주기적으로 저층의 빈산소수에 노출되며, 이류(advection) 등과 같은 물리적 과정에 의해 중층 또는 표층까지 도달하여 피해가 발생하기도 한다(Yanagi, 2004). 이매패류의 경우 산소가 고갈된 환경에서 생리적 과정 및 행동의 변화를 통해 산소소비량(Oxygen consumption)을 유지하거나 에너지보존을 통해 산소 스트레스에 저항한다고 알려져 있으나(Le Moullac et al., 2007), 장기간의 빈산소 환경은 결국 생물의 폐사를 유발할 것이며, 실제로 빈산소수는 고수온과 더불어 양식생물 집단폐사의 원인으로 지목되고 있다.

우리나라 하천은 경사가 급한 지형적 특성과 강수량의 계절적 편기 특성으로 유량변동이 심하다. 이에 따라 우리나라는 홍수 대비 및 수자원 확보를 위해 4대강 전 수역에 다목적 댐 등의 통합 수자원 시스템을 구축하여 운영하고 있다(Lee et al., 2014). 일반적으로 댐은 저수 용량이 한계에 달할 때 담수를 방류하며, 연안에 서식하는 생물들은 단기간에 염분 변화를 겪게 된다(Ro and Jung, 2010). 또한 황 등(2003)에 의하면, 중국의 양자강 유출량에 따른 한반도 서남부해역의 저염분 현상을 보고하였다. 염분은 수온과 함께 이매패류의 생리 생태에 영향을 주는 중요한 환경인자로 알려져 있다(Crain et al. 2004). 특히 급격한 염분 충격은 생물의 생리적 과정 및 삼투조절에 민감하게 영향을 주며, 저염수 노출이 지속되면 결국 치사하게 된다(Harris and Ulmestrand., 2004). 더욱이 환경이 회복되더라도 저염수에 노출된 패류는 회복이 어려워 결국 폐사에 이른다(이, 1996).

우리나라 연안에서 빈번하게 발생하고 있는 유해·유독 미세조류의 대발생 역시 연안 양식장에 큰 피해를 주고 있다. 대표적으로는 수산업에 큰 피해를 주는 *Cochlodinium polykrikoides*와 마비성 패류 독소(Paralytic Shellfish Poisoning, PSP)를 일으키는 *Alexandrium* 속이 있다. *C.*

*polykrikoides*는 독성은 없지만 다량의 점액 물질을 함유하고 있어 어류의 호흡장애를 일으키며, *C. polykrikoides*의 발생범위는 광역화하고 있는 추세다(이 등., 2015). 또한, 2013년 하계에는 우리나라 전 해역에 걸쳐 발생한 *C. polykrikoides* 대발생에 의해 247억에 달하는 심각한 수산업 피해를 입었다. PSP는 유독 와편모조류 일종에 의해 생성되는 생물독소(biotoxin)로, *Alexandrium* 속은 가장 대표적인 PSP 원인종으로 알려져 있다(Taylor et al., 2003). PSP에 의한 생물의 독화는 주로 PSP 원인종을 섭취한 이매패류에 독소가 축적되어 발생하며, 이들은 먹이사슬을 통해 다른 생물에 독소를 전달시킬 수 있는 PSP의 주요 생물매개체(transvector)다. 이매패류에 축적된 독소는 그들 자신에 거의 유해하지 않으나, 인간이 독화된 패류를 섭취할 경우 근육마비와 호흡곤란이 나타나며 높은 수준의 PSP는 사망을 유발해 공중보건상 심각한 위해를 초래한다(Chand, 2009). 또한, 우리나라는 PSP 허용기준치($80 \mu\text{g STX equivalent } 100 \text{ g}^{-1}$)를 넘은 해역에선 패류채취를 금지하고 있어 사회·경제적으로도 막대한 피해가 발생한다.

이상의 연안환경 변화를 감지하기 위해 우리나라에서는 물리·화학적 인 센서를 이용한 관측시스템이 운영되고 있다. 이는 연안의 환경상태를 잘 정의된 물리 값으로 계측할 수 있으나, 해당 환경자료는 실제 생물이 받는 생물학적 위해성을 반영하지 못한다는 한계가 있다(Kramer and Botterweg., 1991). 생물이 받는 스트레스는 수산피해와 직접 연결되며, 이와 관련된 생물의 반응은 해당 생물의 생리적 상태 및 다양한 환경요인에 의존하여 나타난 결과다. 따라서 생물의 반응을 이용해 이상해황을 조기에 감지한다면 양식장의 적절한 대응을 통해 수산피해를 감소시킬 수 있을 것이다.

최근에 생물을 이용하여 이상해황을 지시할 수 있는 바이오 모니터링 시스템(Bio-Monitoring System, BMS)이 활발히 연구되고 있다. BMS

는 환경자극에 특정한 반응을 보이는 생물을 활용하여 환경의 변화 및 생태학적 건강성을 평가하는 통합적인 시스템이다. 평가에는 생물의 지표와 행동변화를 관찰하는 것이 포함되며, 일반적으로 BMS에는 박테리아, 미세조류(microalgae), 그리고 어류의 행동 및 생화학·생리적 변화를 이용해 왔다(Bae and Park, 2014). 우리나라도 수질환경보전법 시행규칙에 근거해 공공수역의 수질 및 수생태계 현황을 파악하기 위해 한강물환경연구소, 4대강 유역 수질측정소 등에서 물벼룩과 어류를 이용한 생물측정망이 운영되고 있다(환경부, 2016). 그러나 어류는 독성물질에 대한 긴 반응시간과 낮은 민감성으로 정량화·표준화가 어려우며, 미세조류 및 박테리아의 경우 시험생물의 유지가 까다롭고 행동의 식별이 어려워 이들을 이용한 수질오염감지가 제한될 수 있다(Morse et al., 2007).

이때패류는 성장과 생식에 필요한 산소와 먹이 및 영양염 등을 아가미의 여과작용을 통해 획득하는 여과섭식자(filter feeder)다. 이들은 여과과정에서 용존상과 입자상으로 존재하는 오염물질을 불가피하게 흡수하고 높은 농도로 체내에 축적할 수 있다(Yang et al., 2013). 그리고 그들의 조직에 미량의 오염물질 축적을 통해 오염물질의 존재를 밝히는 데 매우 효과적이기 때문에 생물지시종(bio-indicator)으로 자주 이용되어왔다. Sarkar et al.(2008)은 인도의 Sunderban 맹그로브 습지의 중금속에 대한 BMS에 적합한 이때패류 종을 시험하였고, 내장낭 아가미 등의 특정 기관에 중금속의 유의한 축적이 나타난 꼬막(*Anadara granosa*)과 대합(*Meretrix meretrix*)을 중금속 오염 변화를 평가하기 적합한 생물지시자라고 결론지었다. 하지만 상기 방법은 현장해역에서 환경오염을 실시간으로 감지할 수 없다는 한계가 있다. 또한, Bae and Park(2014)은 환경을 평가하는 데 있어 생물의 행동변수를 사용하는 것이 가장 효과적인 방법이라고 제시하였다.

본 연구에서는 이매패류의 폐각운동에 주목하였다. 폐각운동은 이매패류의 폐각이 열고 닫히는 속도 및 양상, 그리고 개각(opened-valve)과 폐각(closed-valve)이 지속되는 시간 등 모든 폐각의 움직임을 의미한다. 폐각운동은 오래전부터 이매패류의 건강도 지표로 사용되어왔으며, 폐각운동을 활용한 BMS에 대한 개념은 Marceau(1909)에서 처음 제안되어 현재까지 많은 연구가 진행되고 있다. 유럽에서는 Dreissena-Monitor 및 Musselmonitor®로 명칭되는 BMS가 발전되어 있으며, 얼룩말 홍합(*Dreissena polymorpha*)이 폐각을 닫는 행동이나 폐각운동 빈도 증가를 수질 악화를 지시하는 행동변수로 이용해 왔다(Borcherding, 2006). 대만의 Jou et al.(2013)은 담수종인 가막조개(*Corbicula fluminea*)의 폐각운동을 활용하여 비소 등의 유해물질 감지를 위한 연구를 수행하였고, 독성물질에 노출되었을 때 가막조개는 폐각의 움직임이 크게 증가하였다고 보고하였다. 일본에서는 Nagai et al.(2006)에 의해 진주조개(*Pinctada fucata martensii*)의 폐각운동을 이용하여 진주생산량 감소를 일으키는 유해조류 *Heterocapsa circularisquama* 및 빈산소수를 포함한 여러 가지 환경오염에 대한 BMS를 개발하였다. 이 중 *H. circularisquama*에 대한 BMS는 KAIRINGARU로 명칭되며, 실제로 일본의 Ago만에서 실시간 *H. circularisquama*의 출현예보를 위해 운영되고 있다.

그러나 현재까지 보고된 이매패류의 폐각운동을 이용한 BMS는 대부분 하천수 중심으로 이상해황에 대한 BMS 연구는 미미한 상황이다. 또한, 일본에서 출현하는 *H. circularisquama*는 국내에 미보고 된 종으로, 우리나라 실정에 맞는 BMS 적용이 필요할 것이다. 본 연구에서 BMS 시험생물로는 이매패류 참굴(*Crassostrea gigas*)을 선택하였다. 앞서 언급되었듯이 우리나라의 양식어업은 패류와 해조류 중심으로 행해지고 있으며, 그중 참굴은 2015년 기준 국내 양식어업 생산량의 약 16%, 패류 생산량의 약

77%를 차지하고 있다(해양수산통계연보, 2016). 이처럼 참굴은 우리나라 대표 양식생물인 동시에 수산 경제적으로 중요한 역할을 함에 따라 본 연구의 시험생물로 선택하였다. 또한, 이상해황이 발생하는 해역에 서식하는 생물을 활용하기 때문에 BMS 운영 시 손쉽게 이용 가능하다는 이점 및 비용효율의 측면도 있다.

본 학위논문에서는 연안 이상해황에 따른 참굴의 패각운동 변화 및 BMS 가능성을 알아보기 위해 다음과 같은 단계로 실내 수조실험과 현장 실험으로 나누어 연구를 진행하였다.

첫 째, 실내 수조실험에 앞서 비교를 위한 기준설정을 위해 참굴의 일반적인 패각운동 특성을 파악하였다. 또한, 참굴의 내인성리듬(endogenous rhythm) 유무를 확인하였으며, 타 이매패류의 패각운동과 비교하여 종 특이성 여부를 확인하였다.

둘 째, 실내 수조실험에는 고수온, 저염수, 빈산소수 및 유해조류 대 발생 등의 이상해양환경을 고려하였으며, 각 이상해황에 대응되는 환경요인인 수온, 염분, 용존산소 및 미세조류를 조절하여 참굴의 패각운동 변화를 파악하였다. 실험을 통해 일반적인 패각운동과 구분되는 특이적 패각운동을 이상패턴으로 도출하였다.

셋 째, 2016년 하계 가막만과 2017년 하계 통영에서 이상해황이 발생한 시기의 패각운동 변화를 파악하였으며, 실내 수조실험에서 도출한 이상패턴과 대응되는지 확인하였다. 실내 수조실험 및 현장실험을 바탕으로 참굴의 패각운동을 활용한 BMS 가능성을 검증하였다.

II. 재료 및 방법

1. 참굴(*Crassostrea gigas*) 시료

본 실험은 경상남도 거제시 한산만에서 수하식으로 양식된 2년산 참굴(*C. gigas*)을 시험생물로 사용하였다. 실험 전 참굴의 크기 및 습중량 측정을 통해 일정한 크기의 개체를 확보하였다(각장: 100 ± 30 mm, 각폭: 30 ± 10 mm, 각고: 30 ± 10 mm, 습중량: 100 ± 30 g). 실험실로 운반된 참굴은 GF/C filter (1.2 μ m pore size)로 여과한 해수를 이용하여 패각에 묻은 이물질을 가볍게 세척, 제거한 후 사육수조에 7일 이상 순치시켰다. 순치기간 동안 먹이생물인 *Isochrysis galbana*를 실험실에서 단일종 배양하여 하루 두 번씩 충분히 공급해주었다. 사육수조의 수온, 염분 및 pH 환경은 양식장 자연환경과 유사하게 조절하였고(수온: 15 ± 1 °C, 염분: 32 ± 1 psu, pH: 8.1), T-S meter(YSI model 30, YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA)를 이용하여 수조환경을 확인하였다. 산소공급은 수조용 기포발생기(DK-8000, DAE-KWANG Electronics. Inc., Seoul, Korea)를 사용하였으며, 3일에 한 번 해수 교체를 통해 신선한 해수를 공급해주었다.

2. 미세조류 세포배양

실험에 사용된 해양 미세조류는 총 4종으로 실험실에서 단일종 배양하였다. 한국해양미세조류은행(Korea Marine Microalgae Culture Center; KMCC)에서 *Isochrysis galbana* (KMMCC-12)를 분양받았으며, 국립수산과학원(National Institute of Fisheries Science; NIFS)의 남해수산연구소에서 *Cochlodinium polykrikoides* (NFRDI-MA-LO-0000021)를 분양받았다. 한국해양과학기술원(Korea Institute of Ocean Science & Technology; KIOST)의 해양시료도서관(Library of Marine Samples; LIMS)으로부터 *Alexandrium fundyense* (LIMS-PS-2358)와 *Alexandrium affine* (LIMS-PS-2345)를 분양받았다(Fig. 1).

미세조류 배양을 위해 f/2 medium을 사용하였다. 배지조제에 사용한 바탕해수는 남해 외양수로, 조제 전 Autoclave (온도: 121°C, 기압: 15 psi, 시간: 20분)를 사용하여 멸균처리 하였다. 조제된 배지는 membrane filter(0.2 µm pore size)로 여과하여 사용하였다.

미세조류의 1차 배양은 f/2 medium 100 ml 삼각플라스크에서 시작하였고, 배양온도 및 염분은 20°C (*C. polykrikoides*는 25°C), 30 psu, 광주기는 12 L : 12 D(: cool-white fluorescent lamp)로 조절하였다. 1차 배양 이후 2 L 삼각플라스크, 20 L 아크릴수조 순으로 미세조류를 집중하여 대량배양 하였다. 최종 세포밀도(cell density)가 10,000 cells ml⁻¹ 이상이 될 때 실험에 사용하였다. 염분은 자연해수와 2차 증류수를 혼합하여 30 psu로 조절하였고, T-S meter(YSI model 30, YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA)를 이용하여 확인하였다.

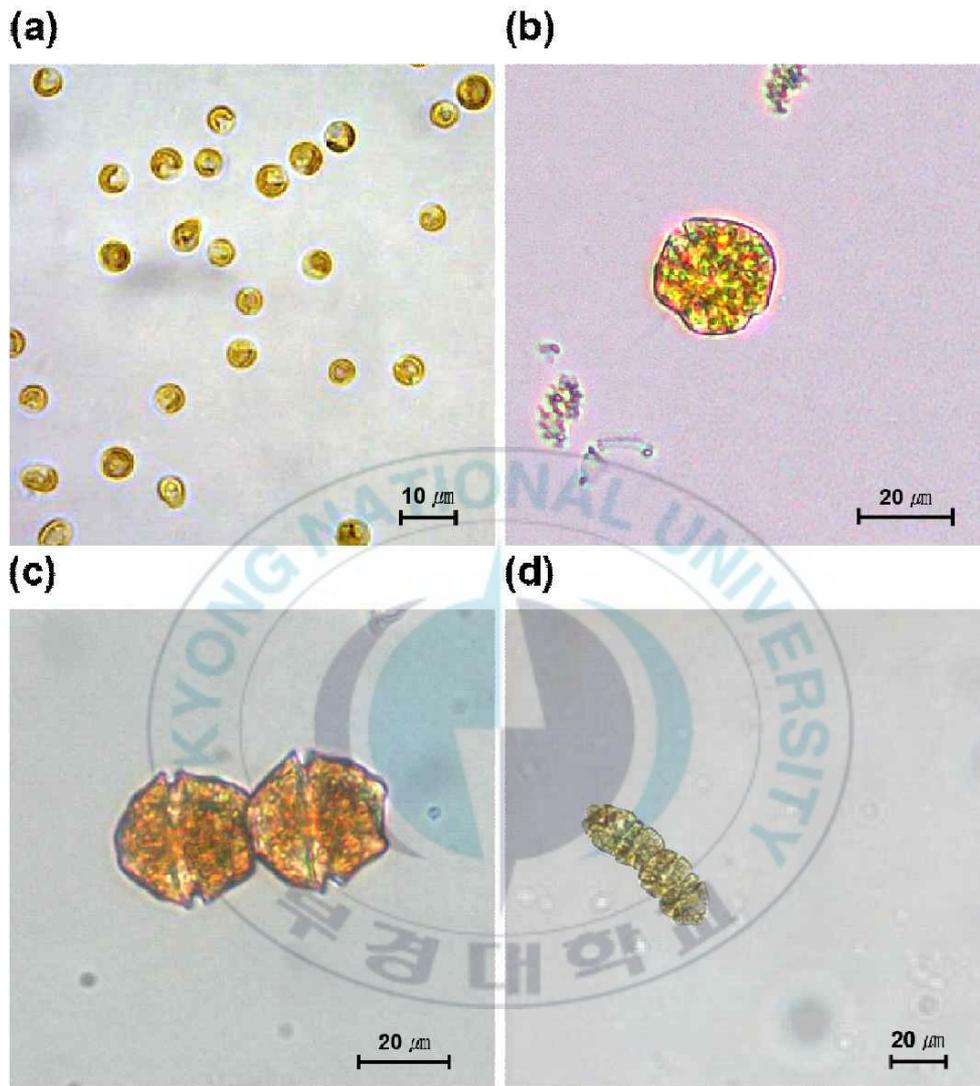


Fig. 2. Light microscope photographs of (a) *Isochrysis galbana*, (b) *Alexandrium fundyense*, (c) *Alexandrium affine*, (d) *Cochlodinium polykrikoides*.

3. 패각운동(Shell-Valve Movements; SVMs)의 측정

패각운동(Shell-Valve Movements; SVMs)의 측정에는 소형 홀 소자 (A1369EUA-24-T, Allegro MicroSystems LLC., Worcester, USA)와 패각 운동 측정장치(OT-SVML-001, OCEANTECH Co., Busan, Korea)를 이용하였다(Fig. 2). 홀 소자(Hall effect sensor)는 자기장의 세기에 따라 출력 전압을 변화시키는 변환기로, 홀 소자는 근접스위치(proximity switching), 위치결정(positioning), 속도감지 및 전류감지 애플리케이션 등의 정밀측정 작업에 활용된다(Edward, 2006). 패각운동의 측정을 위해 참굴의 왼쪽 패각 말단부에 홀 소자를 부착하였고, 연직 위치의 오른쪽 패각에 자석을 부착하였다. 측정원리는 참굴의 두 패각에 부착된 홀 소자와 자석의 거리 변화가 자기장의 변화량으로 전환되고, 홀 소자를 통하여 전기적인 신호인 전압의 형태로 출력하여 패각운동이 측정되는 것이다(Fig. 3). 여기서 홀 소자와 자석의 거리 변화는 두 패각 사이 거리 변화를 나타낸다. 실험에 사용된 홀 소자는 2g의 무게와 15 ~ 1,000 mV의 감도를 가지며, 수중에서 작동이 가능하도록 절연처리 되었다. 측정수준은 0.5, 1.0, 2.0 Hz 중 선택 가능하며, 본 연구에서는 1.0 Hz 수준에서 측정하였다. 패각운동 측정기의 경우 총 8개의 채널로 구성되어 각 채널에 홀 소자를 연결해 사용하며, 한 번에 참굴 8개체의 패각운동 측정이 가능하다. 홀 소자 및 자석 부착은 시험생물에 유해하지 않은 무독성의 친환경 산호접착제(Coral Gum 104.74, TUNZE Co., Penzeberg, Germany)를 사용하였다.

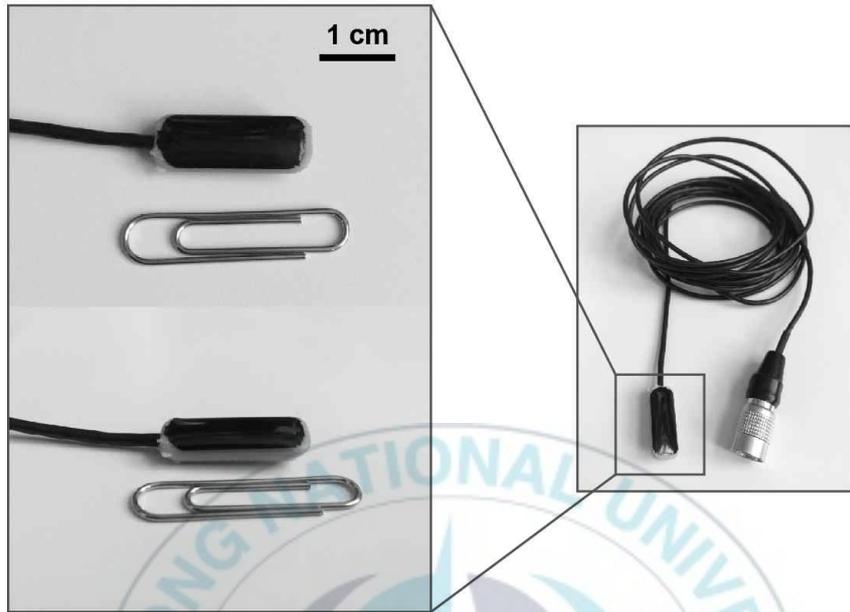


Fig. 3. Hall element sensor for sensing abnormal environments.

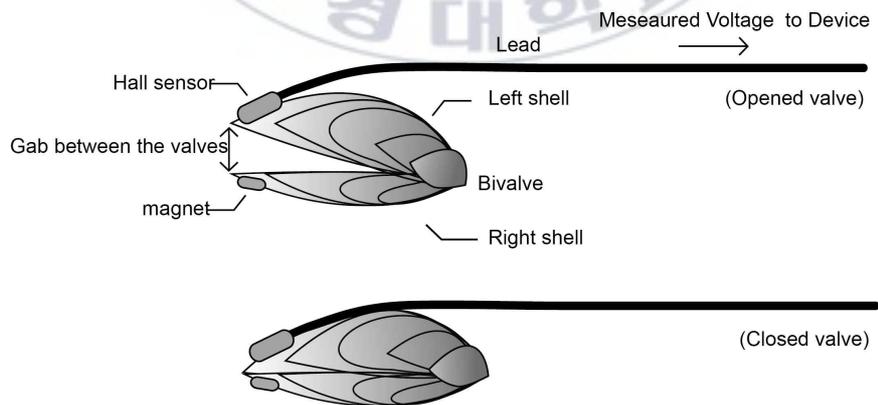


Fig. 4. Measuring principle of SVMs of Pacific oysters.

4. 환경요인에 따른 참굴의 패각운동 변화 측정(수조실험)

4-1. 실험수조 및 환경조건

모든 수조실험에 사용된 참굴 개체는 생물의 먹이섭이 영향을 배제하기 위해 GF/C filter (1.2 μm pore size)로 여과한 해수에 3일 이상 절식시켜 준비하였다. 수조환경 적응을 위해, 실험 전 하루 동안 패각운동측정장치와 연결한 개체를 실험수조에 순치시켰으며, 수조에는 15 L의 여과해수를 부과하였다. 실험에 사용된 수조는 60 L 용량으로 LED가 설치된 덮개관을 가지며, 외부의 빛과 충격으로부터 차단·보호될 수 있도록 제작되었다(Fig. 4). 기포발생기(DK-8000, DAE-KWANG Electronics. Inc., Seoul, Korea)를 사용하여 산소를 공급해주었다. 수조의 수온, 염분, 그리고 pH 환경은 각각 $15 \pm 1^\circ\text{C}$, 32 ± 1 psu, 8.1을 기본으로 설정하였으며, 실험의 목적에 따라 환경조건을 조절하였다. 광 조건의 경우 사전실험을 통해 빛이 패각운동에 영향을 주지 않음을 확인하였고, 이후 진행되는 모든 실험은 암조건 하에서 실시하였다.

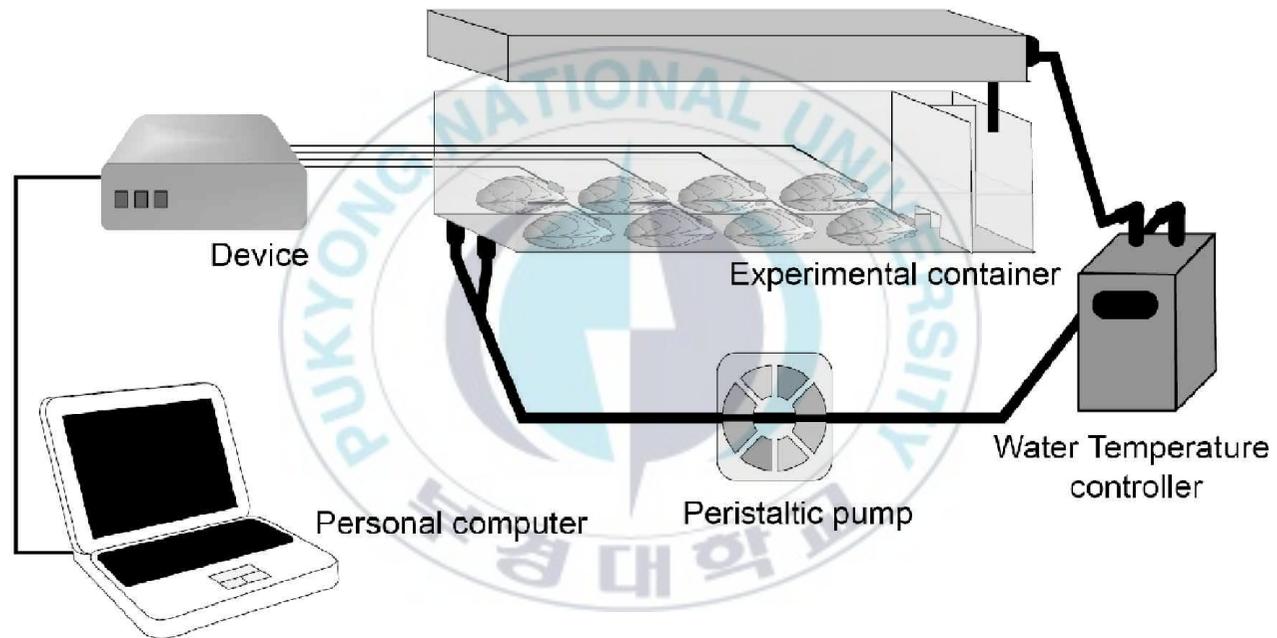


Fig. 5. Schematic diagram of the experimental design model for detecting abnormal environments.

4-2. 수온 노출실험

수온 노출실험은 수온이 증가하는 방식을 기준으로 폭로식과 연속식, 두 가지 방법으로 나뉘어 수행되었다. 폭로식 실험의 경우, 굴 양식장의 연중 수온 변화를 고려하여 4단계의 실험구간(5, 10, 20, 30℃)을 설정하였고, 5℃부터 시작하여 수온을 증가시켰다. 실험구간마다 2시간 간격으로 총 8시간 동안 패각운동을 측정하였다. 연속식 실험의 경우, 20℃부터 수온을 연속적으로 증가시켜 그에 따른 패각운동의 변화를 측정하였다. 또한 자세한 반응을 관찰하기 위해 투명한 유리수조에서 실험을 진행하였으며, 이를 카메라를 이용해 녹화하였다. 수온 조절은 연동펌프(model 7518-00, Cole Parmer Instrument Co., Chicago, IL, USA)와 냉각기(DBA-075, Daeil COOLER CO., Busan, Korea), 그리고 수조용 석영관 히터(HA-200, Zhongshan Chuangmei Electric Co., Zhongshan, China)를 이용하였다.

4-3. 염분 노출실험

염분 노출실험은 염분만을 변화시킨 단일요인 실험과 염분 및 수온을 함께 조절한 복합요인 실험으로 나뉘어 수행되었다. 단일요인 실험에서는 염분을 10 psu 간격으로 4단계의 실험구간(30, 20, 10, 0 psu)을 설정하였으며, 높은 농도에서 낮은 농도 순으로 실험을 진행하였다. 실험구간마다 2시간 간격으로 총 8시간 동안 패각운동을 측정하였다. 복합요인 실험의 Group-A는 수온과 염분을 각각 15℃, 15 psu로 설정하였고, Group-B는 수온은 30℃, 염분은 15 psu로 총 24시간 동안 패각운동을 측정하였다. 염분은 자연해수와 초순수를 혼합하여 조절하였으며, T-S meter(YSI model 30, YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA)를 이용하여 염분을 확인하였다.

4-4. 빈산소 노출실험

빈산소 노출실험은 용존산소(dissolved oxygen; DO)만을 변화시킨 단일요인 실험과 용존산소 및 수온을 함께 조절한 복합요인 실험으로 나누어 수행되었다. 단일요인 실험의 경우 실험수조에 질소가스(N₂)를 주입하여 용존산소 농도를 연속적으로 감소시켜 2 mg l⁻¹ 이하의 빈산소 환경을 조성하였으며, 이후의 실험기간 동안 빈산소 상태를 유지시켰다. 질소가스 주입 시, 질소의 공기방울이 폐각운동에 주는 영향을 최소화하기 위해 수조의 중층에 설치하였다. 실험수조 중 용존산소는 용존산소 센서를 이용하여 실시간 변화를 측정하였다. 복합요인 실험은 온도 조건이 다른 두 Group을 설정하였고, 두 Group 모두 실험수조 중 용존산소를 2 O₂ mg l⁻¹ 이하(빈산소수)로 유지시켜 주었다. Group-C와 Group-D의 수온은 각각 15, 30℃로 설정하였고, 24시간 동안 폐각운동을 측정했다. 용존산소 및 수온 조절은 ‘2-6-1. 수온변화에 따른 참굴의 폐각운동 변화측정’, ‘2-6-4. 용존산소 변화에 따른 참굴의 폐각운동 변화측정’을 따른다.

4-5. 미세조류 노출실험

실험에는 *I. galbana*, *A. fundyense*, *A. affine*, *C. polykrikoides* 네 종의 미세조류가 사용되었다. *C. polykrikoides* 노출실험의 경우 국립수산과학원에서 적조관심, 적조주의보, 적보경보를 발령하는 기준에 해당하는 10, 100, 1000 cells ml⁻¹를 실험구간으로 선택하였으며, 각 농도마다 참굴 4 개체를 24시간 동안 노출시켜 패각운동을 측정하였다. *C. polykrikoides*을 제외한 3종의 노출실험은 다음과 같이 설정하였다. PSP를 유발하는 *Alexandrium*의 세포밀도 및 독소 섭취량에 대한 뚜렷한 기준은 없으나, Ishida et al(1998)에 의하면 *Alexandrium catenella*는 100 ~ 1000 cell ml⁻¹에서 측정가능한 수준의 PSP 독소를 함유하였으며, 이는 낮은 세포밀도일지라도 PSP 위험성을 간과할 수 없음을 시사한다. 이를 고려하여 *A. fundyense* 및 *A. affine*의 실험구간은 ml 당 10 cells의 극히 낮은 세포밀도부터 시작하여 총 5 구간(10, 50, 100, 500, 1000 cells ml⁻¹)으로 설정하였다. *I. galbana*는 나머지 3종에 대한 대조구로 사용되었기 때문에, *I. galbana* 노출실험은 유독·유해조류의 실험구간에 맞춰 총 5 구간(10, 50, 100, 500, 1000 cells ml⁻¹)으로 설정하였다. 실험구간마다 1시간 간격으로 총 5시간 동안 패각운동을 측정했다. 각 실험구간을 만족하는 세포수를 계산하여 실험수조에 주입하였다. 하나의 실험구간이 완료되면, 실험수조 중 세포밀도와 배양액의 세포농도를 고려하여 다음 실험구간을 만족하는 적절한 배양액 양을 수조에 주입하였으며, 이 과정을 반복수행하였다. 수조로 주입된 배양액 양과 동일한 양의 해수는 수조로부터 제거되었고, 이는 배양액의 주입보다 선행되었다. 세포밀도는 광학현미경으로 직접 3회 반복 계수하여 구하였고, 실험수조로 주입하는 배양액 양은 아래의 간단한 식에 대입하여 계산하였다.

$$\frac{(C_2 - C_3)}{(C_1 - C_3)} \times V$$

V*: 실험수조에 주입하는 실험대상종의 배양액 양 (ml)

V: 실험수조의 해수의 양 (ml)

C₁: 실험대상종 배양액의 세포농도 (cells ml⁻¹)

C₂: 실험농도구간 (cells ml⁻¹)

C₃: 실험수조의 세포농도 (cells ml⁻¹)



5. 이상해양현상에 따른 참굴의 패각운동 변화 측정(현장실험)

5-1. 2016년 하계

2016년도 현장실험은 여수 가막만(Fig. 5)에서 2016년 8월 24일 ~ 9월 4일에 실시되었으며, 정점의 수심은 약 15 m이다. 일반적으로 많은 수하식 양식생물들은 서식지 환경에서 수중 내 산소변화에 수시로 직면하고 있다. 특히 조석 주기 동안 규칙적으로 저산소나 심지어는 무산소 조건에 노출되는 것에서 착안하여 실험을 구상하였다. 현장실험에서는 현장용 패각운동 측정장치와 연결된 참굴을 그물망에 넣어 CTD system, 용존산소 센서와 함께 수심 8 m 지점에 위치하도록 설치하여 일반적인 전자 관측장비와 이매패류 모니터링 시스템의 결과를 비교하였다. 수온과 염분은 CTD system을 이용하였고, 용존산소는 용존산소 센서로 실시간 측정하였으며, 조위는 여수 조위관측소의 자료를 사용하였다.

5-2. 2017년 하계

2017년도 현장실험은 패류생산 지정해역 2호인 통영 학림에서 실시되었다(Fig. 5). 실험은 2017년 7월 13일 ~ 9월 14일까지 수행되었고, 적조생물에 의한 패각운동을 관찰하기 위해 학림해역에 현장용 패각운동 측정장치와 연결된 참굴을 그물망에 넣어 수심 3 m 지점에 설치하여 측정하였다. 적조정보는 국립수산과학원에서 제공하는 적조속보자료를 이용하였다.

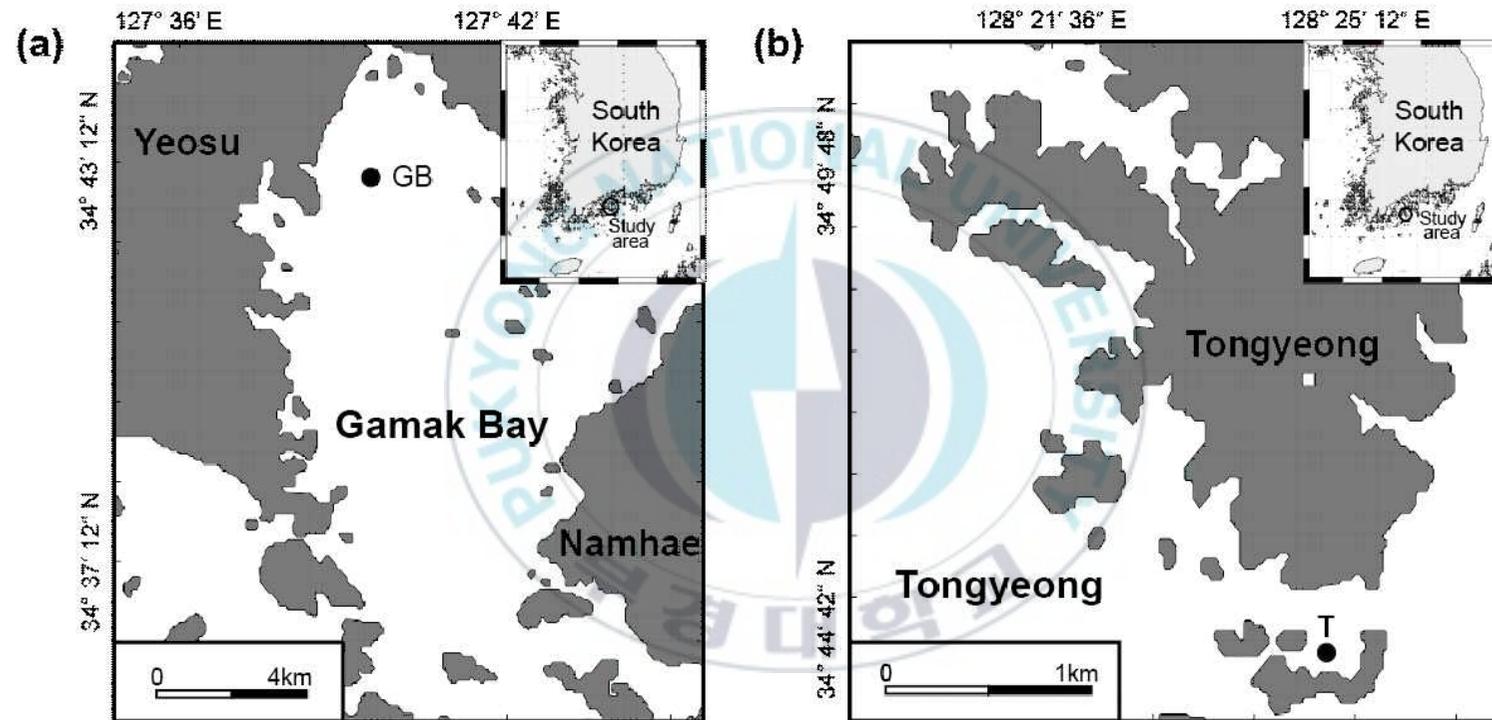


Fig. 6. Location of the research station (a) in 2016, (b) in 2017.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 참굴(*C. gigas*)의 일반적인 폐각운동 특성

이매패류는 해양환경에서 다른 생물에 비해 이동성이 적은 생물로 알려져 있으나, 폐각을 열고 닫는 움직임은 상당한 활동성을 가진다. 폐각이 움직이는 속도나 개각 및 폐각 유지기간 등 모든 폐각의 움직임을 폐각운동이라 지칭한다. 이매패류의 폐각운동은 섭식활동, 심박률 그리고 내인성리듬 등의 생리적 요인과 단순 물리적 자극과 같은 외부적 요인에 따라 영향을 받는다고 알려져 있다(Curtis et al., 2000; Damien et al., 2009). 즉 폐각운동은 생물이 노출된 환경에 대한 생물반응을 나타내며, 이를 측정하여 나타난 폐각운동 변화를 통해 환경변화를 파악할 수 있을 것이다. 환경요인에 따른 이매패류의 여과율이나 호흡률 혹은 체성분 구성을 포함하는 대사생리 및 생체변화에 대한 연구는 다양하게 수행되어 왔다(Shin et al., 2012; Lee and Shin, 2015). 그러나 이들 항목의 측정은 실험실에서 수행되었고, 이를 통해 현장에서 해양환경을 파악하기에는 어려움이 있다. 이에 반해 폐각운동을 이용한 BMS는 현장에서 측정 및 적용이 가능하며, 실제로 이매패류의 폐각운동을 활용한 BMS에 대한 연구는 현재까지 많이 보고되어왔다(Borcherding., 2006; Nagai et al., 2006; Jou et al., 2013). 본 연구의 시험생물은 수산 경제적으로 중요한 양식생물인 참굴이며, 본 장에서는 여러 가지 환경요인 노출실험에 앞서, 참굴의 폐각운동 양상을 이해하고 비교를 위한 기준설정을 위해 참굴의 일반적인 폐각운동 특성을 알아보았다.

폐각운동을 측정하기 위해서는 폐각이 움직인 거리와 속도를 수치화할 수 있는 도구가 필요하며, 이는 이매패류의 폐각 활동에 무리를 가하지

않아야 한다. 본 실험에는 해당조건을 만족하는 도구로 크기가 작고 가벼운 홀 소자를 이용하였다. 이제까지 이매패류의 폐각운동 측정에는 통상적으로 Kymograph, Strain-gauge 방법이 사용되어왔다. 위의 기기들은 상당한 부피와 무게를 가지기 때문에 이매패류는 기기의 무게에 저항해야 하고 폐각의 움직임에 방해받을 수 있다. Oh et al.(2013)에 의하면 홀 소자는 기존의 폐각운동 측정기기에 비해 부착에 따른 스트레스가 적어 자연상태에 가까운 폐각운동 측정이 가능하다고 보았다.

Fig. 6에는 시간에 따른 측정전압 값을 나타내어 실험수조 중 참굴의 폐각운동 변화를 나타냈다. 여기서 측정된 전압차는 두 폐각 사이 거리를 의미하며, 전압 값의 증가와 감소는 각각 개각거리의 증가와 감소를 지시한다. 참굴은 폐각을 열어 개각하고 있는 것을 기본상태로 가지며 시간당 평균 6 회($\sigma: \pm 3$, max: 11 회 hr^{-1} , min: 0 회 hr^{-1})의 폐각운동을 보였다. 참굴의 전형적인 폐각운동은 개각상태에서 폐각을 닫은 상태, 즉 폐각상태로 빠르게 이행된 후 서서히 폐각을 열어 기존의 개각상태로 돌아오는 특징을 보였다. 개각상태에서 폐각상태로의 이행은 1초 이내로 빠르게 이루어졌고, 약 10분에 걸쳐 기존의 개각상태로 되돌아왔다. 최근 문헌에서 타 이매패류 중의 폐각운동은 참굴의 전형적인 폐각운동과 다른 양상의 폐각운동이 보고되었다. Suzuki et al.(2011)은 호기성 및 저산소 환경에서 다른 키조개(*Atrina lischkeana*)의 폐각운동을 측정한 결과, 호기성 환경에서 키조개는 개각상태를 지속하다가 13초 간격으로 2 ~ 5 회 연속적인 개폐운동이 집중적으로 나타난 후 다시 폐각을 열어 개각상태를 지속하는 운동이 나타났다. 또한 Nagai(2006)의 연구결과에 의하면, 진주조개(*Pinctada fucata martensii*)는 개각하는 속도와 폐각하는 속도가 서로 유사하여 진주조개의 폐각운동은 마치 침(needle)같은 형태를 가진다고 보고하였다. 위의 문헌 보고는 본 연구의 참굴의 전형적인 폐각운동과 상이하였다. 본 연구

의 참굴과 다른 이매패류들의 일반적인 폐각운동 특성은 Fig. 7에 나타내었다.

이매패류의 폐각운동은 접변인대(hinge ligament)와 폐각근(adductor muscle)의 상반작용에 의해 발생한다. 개각은 접변인대의 탄성 및 폐각근의 이완에 의해 일어나고, 폐각의 경우 폐각근 수축에 의해 유도된다. 이매패류의 폐각근은 가장 크고 두드러진 기관으로 서로 다른 특징을 가지는 근섬유로 이루어져 있다. 반투광의 검은 횡문근섬유(striated muscle fiber)는 위상성근(phasic adductor muscles)으로, 유백색의 평활근섬유(smooth muscle fiber)는 긴장성근(tonic adductor muscles)으로서 기능을 한다. 횡문근은 급격하고 반복적인 폐각을 일으키고, 평활근은 수축의 지속성이 높아 폐각을 완전히 닫은 폐각을 유지할 수 있다. 이처럼 폐각 시 작용하는 폐각근의 구성부에 따라 두 가지 폐각반응이 나타난다. 참굴은 진주조개나 가리비와 같은 Monomyarian bivalve로서 유생 초기단계에선 2개의 폐각근을 가지나 부착기 유생단계에서 전폐각근은 소실된다. 그 이후 변태과정에서 후폐각근이 발달하여 하나의 폐각근을 가지게 된다. 이에 따라 하나의 폐각근이 위에 서술된 폐각운동을 일으키는 기능을 하게 된다. 실험결과와 타 문헌을 보아 이매패류는 종에 따라 다른 폐각운동 양상이 나타나 이매패류의 폐각운동은 종 특이성(species specific)을 가지는 것이 나타났다. 이와 관련하여 Oh et al.(2013)은 폐각운동을 일으키는 폐각근은 패류 종에 따라 달라지므로 이매패류의 폐각운동을 활용한 BMS 구축을 위해서 폐각근 조직에 대한 이해가 필요할 것으로 판단하였다.

한편 실험기간 중 일부 개체에서 폐각을 완전히 닫은 폐각상태를 유지하는 것이 관찰되었다. 이러한 휴지기(resting state)는 짧게는 15분에서 길게는 6시간까지 유지되었다. 휴지기는 동일한 실험기간에 관찰되지 않았으며, 휴지기가 관찰된 기간 사이에 유사성을 발견할 수 없었다. 이러한 휴

지기는 다른 이매패류에서도 찾아볼 수 있었다. Curtis et al.(2000)에 의하면, 진주담치(*Mytilus edulis*)는 신선한 해수에서 대부분의 시간 동안 개각하여 있고 짧은 기간(5 ~ 10분)동안만 폐각상태를 유지하나, 때때로 최대 3시간 동안 완전한 폐각상태를 유지했다. 또한 이러한 행동을 보이는 시간은 진주담치 개체 사이에서도 상당히 달랐다고 보고하였으며, 본 실험결과와 일치하였다. 또한 Tran et al(2011)는 현장에서 참굴의 폐각운동을 관찰한 결과, 참굴의 폐각행동은 달과 태양의 상대적인 위치(조석주기) 및 일주리듬을 따랐고, 대조기간보다 소조기간에 폐각상태를 더 오래 유지하였다고 보고하였다. 이에 따라 휴지기는 참굴만이 가지는 특성이 아닌 타 이매패류 중에서도 나타나는 특성으로 보인다. 본 실험에서 나타난 휴지기는 외부 환경자극에 의해 유발된 반응이 아니며, 생물의 내부요인에 의한 영향으로 보았다.

이상의 실험결과에 의하면, 참굴은 빠르게 폐각을 닫고 서서히 폐각을 여는 움직임을 기본 폐각운동으로 가지며 실험기간 중 일정하지 않은 휴지기가 관찰되었다. 다른 이매패류 종의 폐각운동과 비교하였을 때 종마다 기본적인 폐각운동 양상이 일치하지 않은 것으로 보아, 이를 참굴의 전형적인 폐각운동 특징으로 보았다. 휴지기의 경우, 생물 개체에 따라 나타난 시간대와 유지기간이 다르기 때문에 환경요인에 대한 이상패턴 파악에는 영향을 미치지 않을 것으로 판단된다.

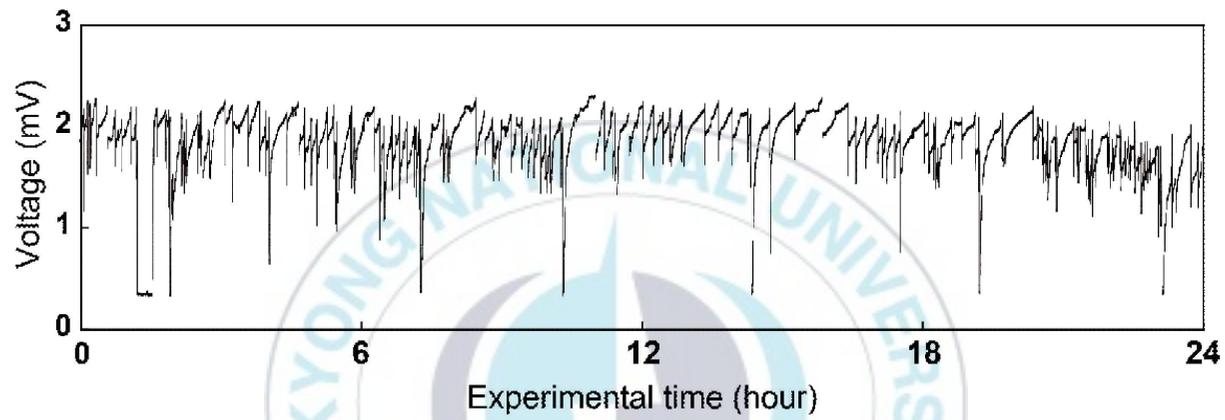


Fig. 7. SVMs of Pacific oysters under experimental container.

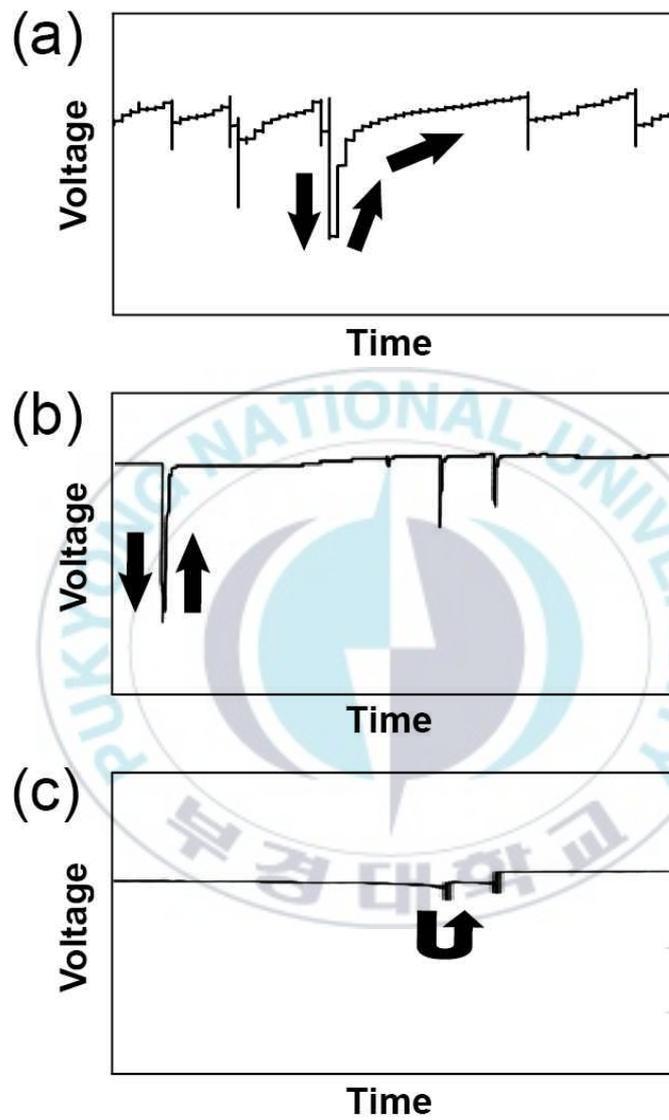


Fig. 8. SVM patterns of Pacific oysters (a; this study), Pearly oysters (b; Nagai, 2006), short necked clams (c; Nagai, 2006).

2. 환경요인에 따른 참굴의 폐각운동 변화특성 결과(수조실험)

이상해양환경과 관련된 환경요인에 따른 폐각운동 변화를 알아보기 위해 실내 수조실험을 실시하였다. 실험에는 하나의 환경인자가 작용하였을 때의 반응과 두 가지의 환경자극이 가하여졌을 때 나타나는 폐각운동을 관찰하였다. 수조실험 시 이상해양환경 조건에서만 나타나는 특정 패턴을 이상패턴이라 지칭하였으며, 실험결과의 유의성 확인을 위한 통계적 분석으로는 독립표본 T-검정 통계법을 이용하였다.

2-1. 수온 노출실험 결과

일반적으로 참굴은 생활사에 따라 수온의 영향을 크게 받는다. 참굴의 생식선(gonad) 발달은 먹이생물의 농도와 수온과 같은 계절적인 환경변동을 따르며 수온은 16°C 이상이면 시작된다(Ngo et al., 2002). 참굴의 산란은 22 ~ 25°C에 도달하는 6월 중순에 시작하고 9월 말까지 지속되기 때문에 참굴의 생식 및 성장은 수온에 큰 영향을 받는다(Ngo et al., 2002). 이외에도 수온의 증가와 감소는 이매패류의 폐각운동에 큰 영향을 주는 것으로 보고된 바 있다(Ortmann and Grieshabe, 2003; Anestis et al., 2007). 본 장에서는 수온에 따른 참굴의 폐각운동 측정을 통해, 폐각운동에 미치는 수온의 영향과 하계 고수온에 노출된 참굴의 이상패턴을 파악하였다.

수온 변화에 따른 참굴의 폐각운동 및 수온 별 폐각운동 빈도는 각각 Fig. 8과 Fig. 9에 나타냈다. 5°C에서 모든 참굴 개체는 실험구간 동안 폐각을 열지 않아 완전한 폐각상태를 유지하였다. Ortmann and Grieshabe(2003)은 재첩(*Corbicula fluminea*)의 폐각운동을 2년 동안 모니터링하여 계절에 따른 재첩의 폐각운동 변화를 알아보았다. 그 결과 재첩은 5°C 이하의 수온에서 지속적인 폐각상태를 유지하였으며, 그 이유는 저수온에서 감소된 물질대사를 보상하기 위해 폐각상태를 선택했기 때문이

다. 위 보고결과는 본 연구의 5°C에서 나타난 쾌각운동 양상과 유사하였으며, 저온에서 나타나는 장기간의 쾌각상태는 에너지보존을 위한 이매패류들의 일반적인 적응인 것으로 판단된다. 10°C와 20°C 구간에서는 각각 5 ± 1 회 hr^{-1} , 16 ± 6 회 hr^{-1} 의 쾌각운동을 보여 수온증가와 함께 쾌각운동 빈도가 증가하였다. 통계적으로도, 검정통계량($t = -6.4840$)이 t 기각치 ($t_{0.01(2),62} = 2.8784$)보다 커 10°C와 20°C구간의 쾌각운동 횟수는 서로 간에 유의한 차이를 보였다(독립표본 T-검정, $\alpha=99$). 이에 따라, 참굴의 쾌각운동은 수온 5 ~ 20°C 범위에서 수온상승에 따라 증가하는 경향이 확인되었다. Loosanoff(1939)의 보고에 의하면, 대합조개(*Venus mercenaria*; 현학명 *Mercenaria mercenaria*)는 서식 가능한 수온 범위 내에서 수온증가에 따라 쾌각운동이 증가하는 경향이 나타났다. 이는 본 연구결과와 유사하였으며, 수온증가에 따른 쾌각운동 증가도 생물의 물질대사와 밀접한 연관이 있을 것으로 생각된다. 대부분의 해양무척추동물은 변온동물로, 체온과 외부의 열 교환이 신속하게 일어나 생물 체내의 온도가 외부온도보다 높더라도 근육운동이 끝나면 바로 외부의 온도와 같아진다. 즉, 변온동물의 체온은 외부온도에 의해 결정되므로 이들의 생리기능이나 물질대사는 외부온도에 강한 영향을 받는다. 변온동물인 이매패류도 수온 변화에 따라 여과율과 호흡률 및 산소소비량을 포함하는 대사생리와 에너지 수지가 달라진다고 확인된 바 있다(이, 1996; Kim et al., 2013; Lee and Shin, 2015). 이상의 보고된 문헌에 의해, 수온증가에 따른 참굴의 쾌각운동 증가 역시 생물의 대사가 활성화된 결과 나타난 행동반응으로 생각된다. 한편 30°C 구간에서는 두 가지 형태의 쾌각운동이 나타났으며, 이를 Case-A와 Case-B로 지칭하였다. Case-A에 포함되는 참굴은 30°C에서 25 ± 9 회 hr^{-1} 의 쾌각운동을 보여 앞서 수온증가에 따라 쾌각운동이 증가할 거라는 기대에 부합하는 결과가 나타났으나, Case-B의 참굴은 30°C 전 구간 동안 완전한 쾌

각상태를 유지하였다. 이외의 특징으로 Case-A에서 나타난 폐각운동은 개각거리가 일정하지 않은 불안정한 운동이 나타났으며, 이는 Case-A의 개각상태 시 나타나는 전압 값의 편차가 큰 것을 통해 추정하였다. 이와 같은 폐각운동 양상은 다른 환경요인 노출실험의 결과에는 나타나지 않았기 때문에, 이는 고수온에서 나타나는 특이적 반응으로 판단된다. 두 형태의 폐각운동은 각각 0.52 : 0.48의 비율로 관찰되어 나타나는 빈도는 유사하였다. 동일한 실험구간에서 나타난 반응의 차이는 고수온에서 선택적으로 나타나는 결과이거나, 혹은 일부 개체가 임계수온(threshold temperatures)에 충분히 달하지 못해 반응이 나타나지 않은 것으로 해석할 수 있다.

Fig. 10에는 앞선 폭로식 수온 노출실험의 30℃에서 관찰된 반응을 이해하기 위해 연속적으로 증가하는 수온에 따른 참굴의 폐각운동을 나타내었다. 실험시작 1시간 후부터 눈으로 인식 가능한 수준으로 폐각운동이 증가하였다. 증가하는 수온에 따라 빠르게 폐각운동이 변화한 후 결국 완전히 폐각하는 반응이 모든 실험 개체에서 발견되었다. 불안정하고 빠른 폐각운동에서 완전한 폐각상태로 변화가 일어나는 이 폐각반응은 개체에 따라 관찰되는 시기가 달랐다. 실험기간 동안 촬영한 실험영상에서도 역시 수온증가에 따라 폐각운동이 활발해지다가 폐각을 닫는 폐각반응을 확인할 수 있었다. 실험결과 참굴은 수온에 따라 물질대사 조절을 위해 폐각운동을 변화시키는 것으로 생각되며, 이는 다음 문헌을 통해 추정하였다. Ortmann and Grieshaber(2003)의 보고에서, 재첩은 하계에 폐각상태를 장시간 유지하여 물질대사의 10%까지 감소시킴으로써 제한된 먹이공급 환경에서 에너지를 보존하였다. Anestis et al.(2007)는 행동, 대사조절, 효소활성 등의 다양한 생물정보를 이용하여 지중해담치의 열 반응을 조사하였으며, 그 결과 지중해담치는 치사율이 증가하는 수온구간에서 폐각유지기간이 다른 실험구에 비해 길게 나타났다. 또한, 호흡의 해당과정에서 글루

코오스(glucose)가 피루브산(pyruvic acid)으로 분해될 때 관여하는 피루브산 키네이스(Pyruvate kinase) 효소 활성이 감소하였다고 보고하였다 (Anestis et al., 2007). 위의 문헌에 의하면, 이때 패류는 에너지 공급과 수요를 조절하여 에너지 요구량을 유지하며, 이를 위해 폐각상태를 선택하여 에너지를 보존할 수 있다고 한다. 연속식 수온 노출실험에서 수온증가에 따라 모든 개체가 폐각을 닫는 반응도 위와 같이 폐각상태를 통해 에너지를 보존한 것으로 추정된다. 수온에 대한 참굴의 내성한계는 품종과 지리적 위치(서식지)에 따라 다양하게 나타날 수 있다고 알려져 있으며 (Miossec et al., 2009), 생리적 상태 및 생활단계도 참굴의 수온 내성에 영향을 주는 중요한 요소로 보고된 바 있다(Powell et al., 2000, 2002). 이외에도 Rajagopal et al(2005)는 홍합의 치사수온(lethal temperature) 및 준치사수온(sublethal temperature)에 영향을 주는 요인을 알아보기 위해 열 내성실험을 수행하였고, 그 결과 개체의 크기 및 계절, 순응온도에 따라 치사수온은 다르게 나타났다. 이상의 문헌보고에 의하면, 이때 패류의 수온 스트레스는 여러 가지 요인에 영향받으며 같은 종일지라도 개체별 생리적 상태 및 크기에 따라 수온 내성이 달라질 수 있음을 시사한다. 본 연구의 결과만으로는 Case 1에 포함되는 개체들이 Case 2의 개체들보다 더 큰 수온 저항성을 보인 요인을 단언할 순 없었다. 그러나 노출실험 전 측정된 참굴의 크기 및 습중량의 경우 Case 1(각장: 109 ± 13 mm, 각폭: 57 ± 6 mm, 각고: 35 ± 6 mm, 습중량: 123 ± 19 g)이 Case 2(각장: 97 ± 5 mm, 각폭: 53 ± 6 mm, 각고: 33 ± 5 mm, 습중량: 90 ± 10 g)보다 더 큰 값을 보였고, 이 같은 개체의 특징에 의해 Case 1의 개체들이 Case 2의 개체들보다 광온성의 생리특성을 가진 것으로 추정하였다. 따라서 30℃에서 나타난 두 반응은 개체 간 수온에 대한 저항성 차이에 의한 것으로 판단된다.

이상과 같이 참굴은 수온에 따라 폐각운동에 크게 영향받았다. 참굴

은 5℃의 저수온에서 에너지보존을 위해 폐각상태를 유지하였다. 이후 수온증가에 반응하여 폐각운동이 활발해지다, 수온 내성한계에 달하면 대사율 감소에 따라 폐각하여 반응하였다. 수온증가에 따른 활발한 폐각운동이 고수온을 지시하는 이상패턴으로 나타났다. 연안 양식장에서는 고수온이 발생하면 고수온에 상대적으로 취약한 어종을 조기에 판매하거나 2차 피해를 막기 위한 폐사체를 처리, 혹은 가두리를 수온이 낮은 수층으로 침하한다. 이때패류의 경우 수하연 길이를 조절하여 고수온에 대응하고 있다. 참굴의 폐각운동을 이용한 BMS가 성공적으로 활용된다면, 고수온 발생 시 어업인들의 신속한 조치를 통하여 양식생물의 폐사를 줄일 수 있을 것으로 기대된다.



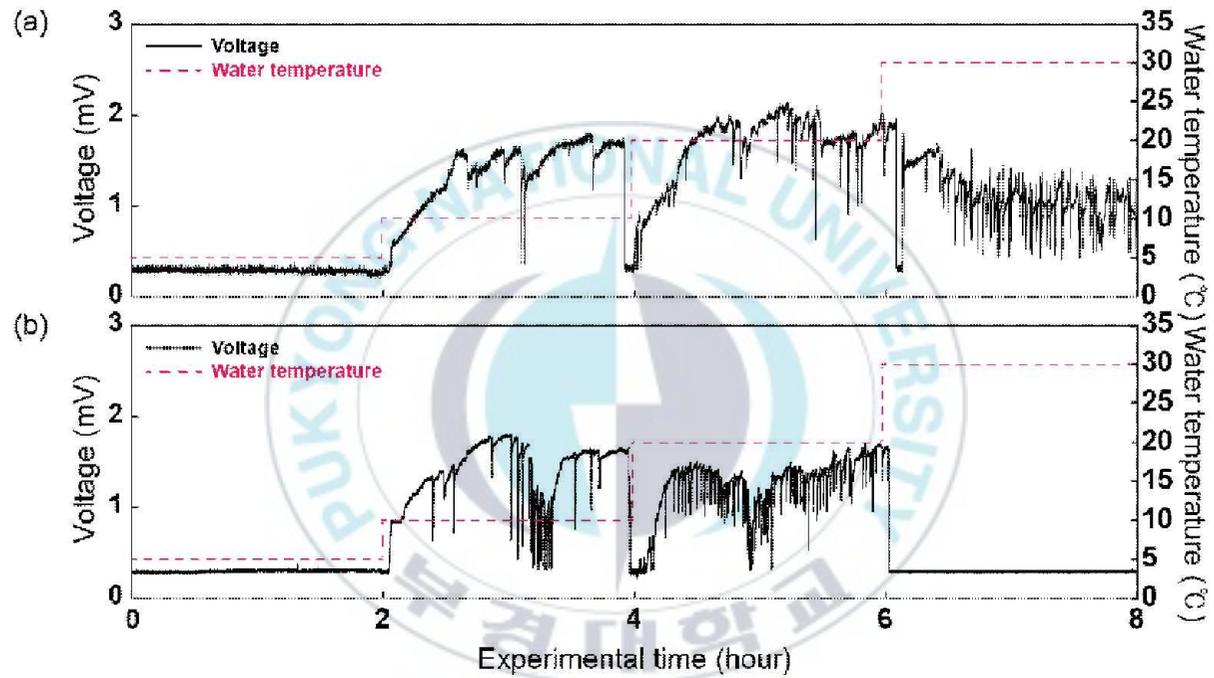


Fig. 9. SVMs of Pacific oysters in response to change of water temperature. (a) Case 1, (b) Case 2.

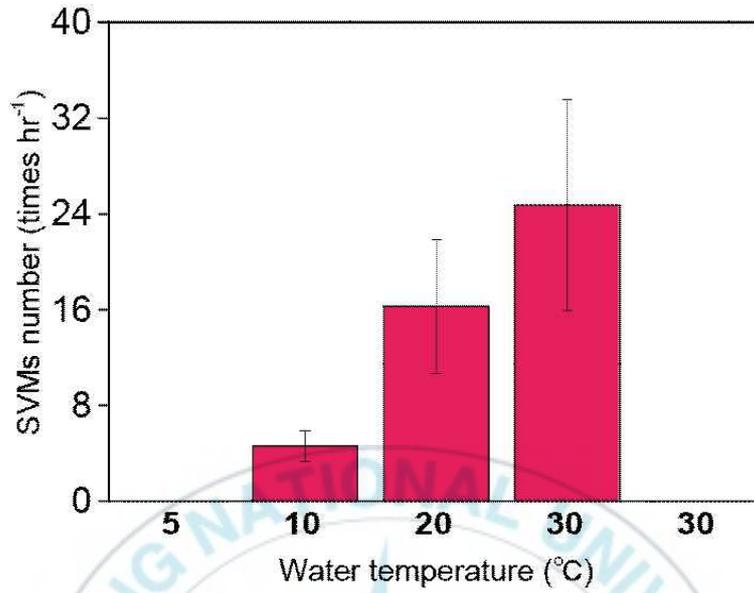


Fig. 10. SVMs number of Pacific oysters in response to change of water temperature.

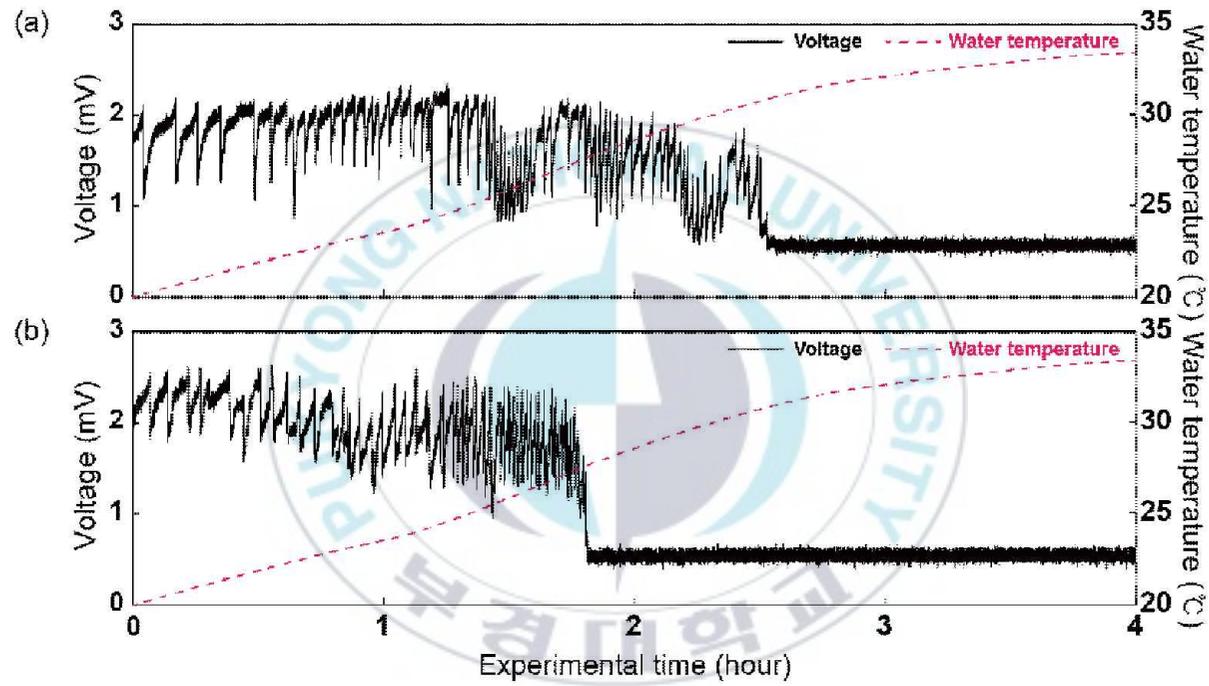


Fig. 11. SVMs of Pacific oysters in response to increase of water temperature.

2-2. 염분 노출실험 결과

이매패류를 포함한 대부분의 해양무척추동물은 외부 삼투압 변화에 맞춰 체내 삼투 농도를 변화시키는 삼투순응형동물(Osmoconformer)이다. 이들은 세포내 이온기울기 조절을 위해 삼투조절형동물(Osmoregulator)만큼 에너지를 소비할 필요는 없지만, 염분변화에 따른 삼투변화를 그대로 겪고 견뎌야 한다(Bradley et al., 2009). 이매패류도 염분의 변화에 따라 대사와 생리적 매개변수에 직접적으로 영향을 받는다고 알려져 있다 (Braby and Somero., 2006). 본 장에서는 연안에서 발생하는 저염수가 참굴의 쾌각운동에 미치는 영향을 알아보았다.

염분 변화에 따른 참굴의 쾌각운동 및 염분농도 별 쾌각운동 빈도를 각각 Fig. 21와 Fig. 22에 나타내었다.에 따른 참굴의 쾌각운동은 Fig. 11에 나타내었다. 그림은 2시간 간격으로 30, 20, 10, 0 psu 실험구간에서 나타난 참굴의 쾌각운동을 나타내며, 각 염분에서 관찰된 참굴의 쾌각운동을 비교하였다. 30 psu와 20 psu 구간에서 각각 7 ± 3 , 7 ± 4 회 hr^{-1} 의 쾌각운동을 보였으며, 이를 Fig. 12에 나타내어 비교하였다. 독립표본 T-검정($\alpha = 99$) 결과, 검정통계량($t = 0.1587$)이 t기각치($t_{0.01(2),62} = 2.778$)보다 작으므로 30 psu와 20 psu 구간의 쾌각운동 횟수는 서로 간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 30 psu와 20 psu 구간에서 나타난 쾌각운동은 참굴의 일반적인 쾌각운동의 범위 내에 포함되며 참굴의 전형적인 쾌각운동 특징을 만족하였다. 10 psu와 0 psu 전 구간에선 모든 실험 개체는 완전한 쾌각상태를 유지하였다. 저염분에 노출된 이매패류의 쾌각운동 반응은 여러 이매패류에서 유사한 결과가 보고되어있다. Shin et al.(2009)은 염분에 따른 대복(*Gomphina veneriformis*)의 여수율을 측정하였고, 그 결과 대복은 10 ~ 15 psu에서 일부 개체에서 쾌각을 닫아 여과활동을 중단하는 것이 관찰되었다. 또한 Heilmayer et al.(2008)의 보고에서, Atlantic oyster

(*Crassostrea virginica*)도 역시 5 psu 이하의 염분에 노출되었을 때 먹이 활동과 배설물 및 위분의 생산을 중단하고 폐각상태를 유지하였다. 이상의 문헌에 의하면, 저염수에서 폐각을 닫는 반응은 주변 환경의 염분변화로부 터 생체조직을 분리시켜 외투강 내부에 남아있는 해수에 노출함으로써 생 체를 보호하는 행동으로 보인다. 20 ~ 30 psu 염분농도는 참굴의 폐각운 동에 영향을 주는 요인으로 작용하지 않은 것으로 생각되며, 10 psu의 저 염수는 참굴의 폐각을 유도하였다. 참굴의 폐각운동을 변화시키는 염분농 도를 알아보기 위해 10 ~ 20 psu의 염분농도에서 참굴의 폐각운동을 활 용한 연구가 필요할 것으로 판단하여, 다음의 염분노출 실험에서 염분농도 를 15 psu로 설정하여 폐각운동을 관찰하였다.

Fig. 13에는 15 psu에 24시간 노출된 참굴의 폐각운동을 나타내었다. 수온 15°C, 30°C로 나누어 실험을 수행되었으며, 각각 Group-A와 Group-B로 지칭하였다. Group-A은 평균 3 ± 1 회 hr^{-1} 의 폐각운동이 관찰 되었고, 이는 30 psu와 20 psu 구간의 폐각운동에 대해 크게 감소된 값이 다. Group-A의 폐각운동은 비교적 오랜 기간 동안 폐각상태를 지속한 후 개각하여 폐각운동을 반복하는 특징적 양상을 보였다. Group-A에서 개각 상태와 폐각상태는 각각 2 ~ 5시간, 5 ~ 10시간 정도 지속되었다. Group-B는 폐각상태와 평균 8 ± 1 회 hr^{-1} 의 폐각운동을 반복하는 특징이 관찰되었다. Group-B의 개각상태와 폐각상태는 각각 1 ~ 2 시간, 0.2 ~ 1 시간 정도 지속되었다. 수온 노출실험의 30°C에서 나타난 폐각운동이 25 ± 9 회 hr^{-1} 인 것에 비해 Group-B의 폐각운동은 현저히 느렸으며, Group-A에 대해 다소 빠른 폐각운동이 관찰되었다. 또한 Group-B의 폐각 지속시간도 Group-A에 비해 크게 감소하였다. 그러나 두 그룹 모두 감소 된 폐각운동과 일정기간의 폐각상태를 반복하는 폐각운동을 보였고, 이를 이상패턴으로 보았다. 생물은 서식환경 변화에 따라 복합적으로 영향받으

며, 두 가지 이상의 환경요인이 함께 작용할 때 길항효과(antagonistic effect)나 상승효과(synergistic effect) 혹은 상가효과(additive effect)가 나타날 수 있다고 알려져 있다(Wahl et al. 2011). Heilmayer et al(2008)는 염분과 온도의 결합이 수생생물의 모든 생물학적 측면에 상승효과를 가지고 있음을 제시하였다. 반면 각각의 환경요인이 독립적으로 생물에 작용한다는 연구결과도 보고되어있다(Bataller et al., 1999). 이와 관련하여 수온과 염분이 유생과 알을 포함한 이매패류에 일으키는 복합적인 영향을 다음 제시된 문헌을 통해 알아보았다. Hiebenthal et al.(2012)는 Atlantic oyster(*Crassostrea virginica*)와 진주담치, 그리고 북대서양 대합(*Arctica islandica*)에 복합적으로 미치는 생리적 영향에 대해 연구하였다. 그 결과 Atlantic oyster는 저온에서 극한 염분조건을 견딜 수 있는 능력이 있으며 대조적으로 수온이 30℃ 이상 상승하면 저염분의 유해한 영향이 강화되었다. 또한 진주담치와 북대서양대합의 사망률, 산화스트레스 및 Condition index(CI)에 대해 수온과 염분은 서로 상호적으로 작용하는 것이 보고되었다. 또한 이(1996)의 연구에 의하면, 동족의 산소소비경향은 수온변화에서 오는 영향보다 염분변화에서 받는 생리적 영향이 더 큰 것으로 나타났다. 이러한 결과는 삼투조절에 사용하는 에너지 손실이 온도변화에 따른 에너지 손실보다 더 크고 그만큼 보상이 어려워 나타난 것으로 제시하였다. 이처럼 수온과 염분은 이매패류의 생리생태에 영향을 주는 주요한 환경인자로서 두 요인은 복합적으로 작용하여 영향을 준다. 본 실험에서는 수온과 염분의 영향이 서로 상가되어 나타난 것으로 판단된다.

이상의 결과를 바탕으로, 참굴은 염분에 대한 내성이 비교적 크지만, 10 psu 이하의 저염수에서 폐각을 닫아 극한 환경으로부터 생체를 보호하는 것이 확인되었다. 20, 30 psu 실험구간에서는 폐각운동의 변화가 관찰되지 않아, 20 ~ 30 psu 범위의 염분은 폐각운동에 영향을 주지 않는 것

으로 생각된다. 염분 15 psu에서 참굴은 감소된 폐각운동과 장시간의 폐각 반응을 보였다. 15 psu에 노출된 참굴이 폐각을 유지하는 것은 생체를 보호하기 위한 기작으로 판단된다. 그 이후 먹이생물 섭이 및 호흡을 위해 간헐적으로 개각하는 행동이 나타났다. 24시간 염분노출 실험의 경우, 이때 패류의 생리활성에 지배적 요인으로 알려진 수온이 폐각운동에 큰 영향을 미쳐 저염수에서 관찰된 이상패턴을 보이지 않을 것으로 예상되었다. 그러나 본 실험의 Group-B에서 저염분과 고수온을 지시하는 폐각운동이 결합된 과형을 보여, 참굴의 생리적인 위기상황에 대한 신호를 뚜렷하게 나타내었다. 그동안 어패류 폐사의 원인으로 이상 고수온이나 빈산소수의 영향을 크게 생각해왔으나, 최근 양자강 하천수가 서해안으로 대거 유입 돼 제주도 해역에 양식생물의 대량폐사가 발생하여 저염수 역시 어패류 폐사 원인으로 지목되고 있다. 또한 저염분에 노출된 패류는 그 뒤 환경이 회복되더라도 생리적으로 회복하기 어렵기 때문에 저염수에 대한 지속적인 경계가 필요하다고 생각된다. 폐각운동의 감소와 폐각상태의 반복은 저염수를 지시하는 것으로 판단되며, 이를 활용할 경우 연안 양식생물에 큰 피해를 주는 저염수를 감지할 수 있을 것으로 생각된다.

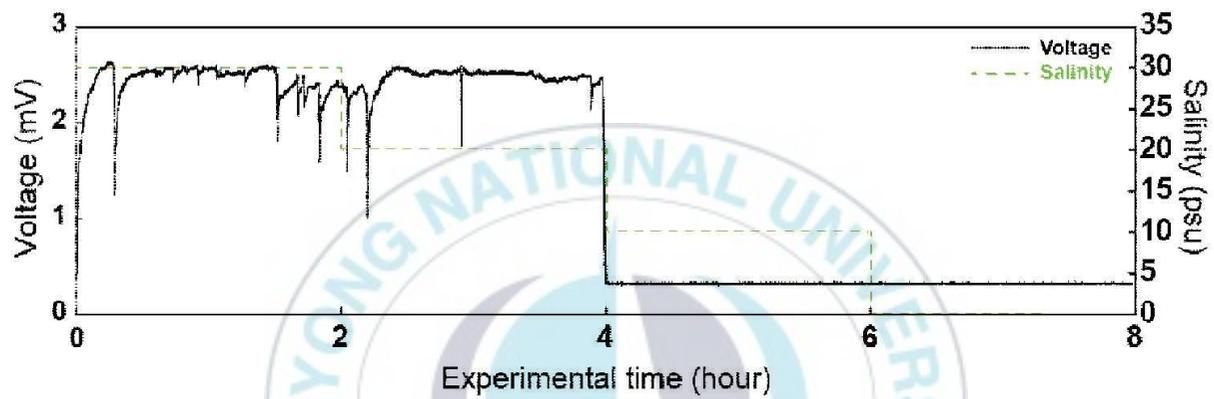


Fig. 12. SVMs of Pacific oysters in response to change of salinity.

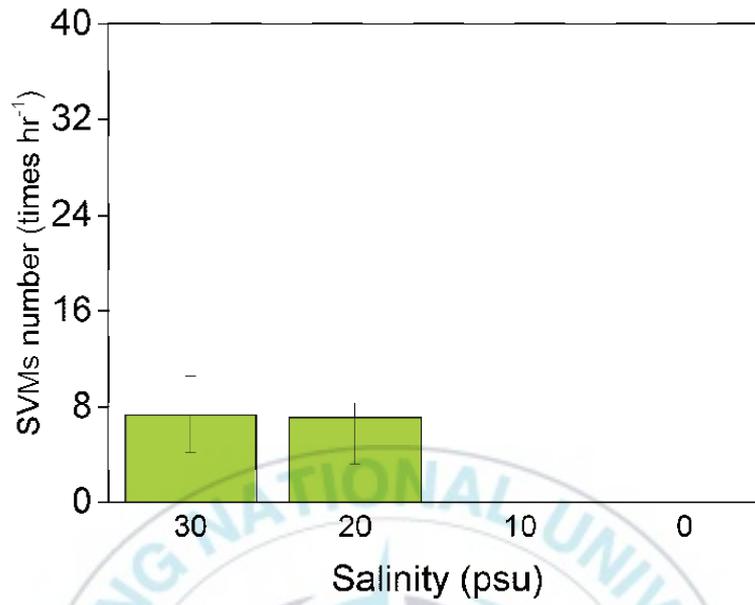


Fig. 13. SVMs number of Pacific oysters in response to change of salinity.

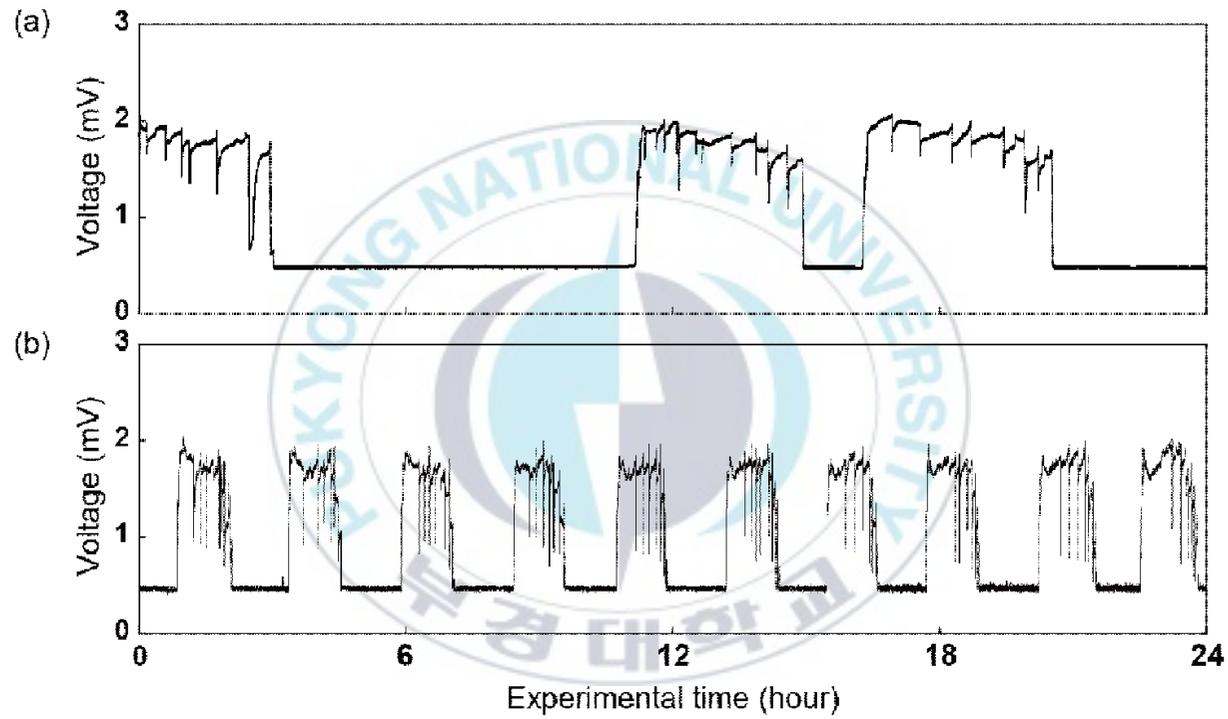


Fig. 14. SVMs of Pacific oysters in response to low salinity(15 psu) (a) with 15°C (b) with 30°C.

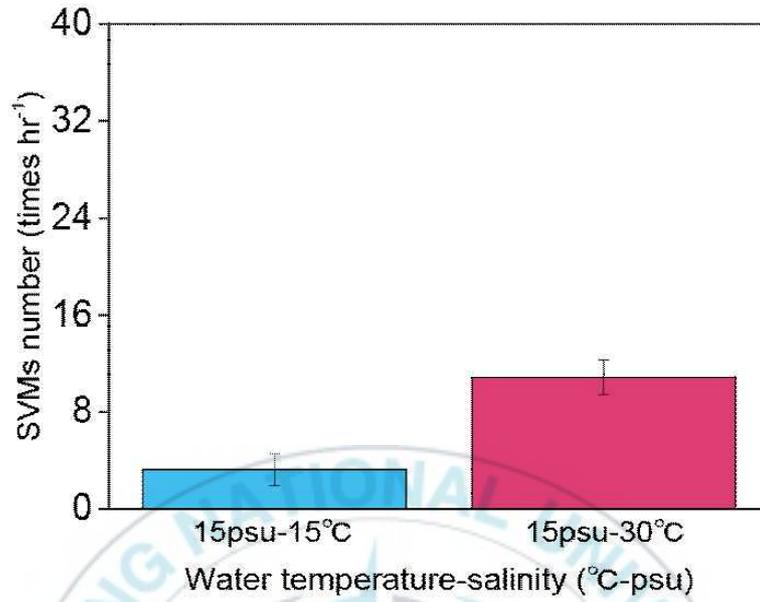


Fig. 15. SVMs number of Pacific oysters under low salinity according to water temperature.

2-3. 빈산소 노출실험 결과

산소는 모든 생물이 생명현상을 유지하는 데 필수요소이며, 용존산소의 결핍은 생물상으로도 뚜렷이 구분되어 생물분포에 제한요인이 될 수 있다. 수생생물은 저산소에 대응하기 위해 산소소비량을 유지하기 위한 시도를 보이거나, 에너지소비를 보존하며, 또는 에너지 효율을 향상시키고 혐기성 공급원으로부터 에너지를 유도한다고 알려져 있다(Wu, 2002). 이때패류의 경우 산소가 고갈된 환경에서 생리적 과정 및 행동의 변화를 통해 산소소비량을 유지하거나 에너지보존을 통해 산소스트레스에 저항한다고 한다(Le Moullac et al., 2007). 본 장은 빈산소 노출실험을 통해 환경에 노출된 참굴의 폐각운동 반응을 알아보기 위해 실험을 수행하였다.

용존산소농도 변화에 따른 참굴의 폐각운동을 Fig. 15에 나타내었다. 실험수조 중 용존산소는 질소가스를 주입한 이후 2시간 동안 $3 \text{ O}_2 \text{ mg l}^{-1}$ 이하로 빠르게 감소하였고, 3시간 경과 후 빈산소 상태에 접어들었으며, 이후 계속 빈산소상태가 유지되었다. 폐각운동의 경우, 참굴은 용존산소 감소에 즉각적으로 반응하였고 용존산소 감소에 따른 폐각운동 증가가 뚜렷하게 관찰되었다. 용존산소가 $3 \text{ O}_2 \text{ mg l}^{-1}$ 이하로 빠르게 감소하는 동안 참굴은 $30 \pm 17 \text{ 회 hr}^{-1}$ 의 빠른 폐각운동을 보였다. 이는 빈산소 노출실험 전 하루 동안의 순치기간에 관찰된 폐각운동과 비교하였을 때 크게 증가한 값이다. 순치기간과 용존산소 감소 시 관찰된 폐각운동 빈도는 Fig. 16에 비교하여 나타내었다. 실험수조 중 용존산소가 $2 \text{ O}_2 \text{ mg l}^{-1}$ 이하(빈산소수)로 접어들었을 때 모든 실험 개체에서 폐각반응이 관찰되었다. 폐각상태는 1시간 이상 지속되었으며, 이 같은 폐각작용이 관찰된 시간 차이는 참굴 개체 간 평균 15분 이내로 유사한 시기에 폐각을 닫는 행동이 나타났다. 이에 따라 위의 폐각반응을 빈산소수에 노출되어 나타난 참굴의 행동반응으로 보았다. 실험수조의 빈산소상태가 계속 유지되었을 때, 참굴은 간헐적으

로 개각하여 폐각운동을 보이다 다시 폐각상태로 돌아갔으며 이러한 행동을 반복하였다. Kawai et al.(2008)의 보고에서, 진주조개는 용존산소를 $6 \text{ O}_2 \text{ mg l}^{-1}$ 에서 $0.5 \text{ O}_2 \text{ mg l}^{-1}$ 으로 감소시켰을 때 폐각운동 활성이 증가하였고, 이 경향은 본 연구결과와 일치하였다. 본 연구의 참굴은 용존산소 감소에 따라 산소소비량유지를 위해 폐각운동이 증가하는 것으로 생각되며, 이는 다음의 문헌을 통해 추정하였다. 일반적으로 이매패류는 용존산소 감소에 직면하여 그들의 산소소비량 적응을 위해 두 가지 방법으로 반응한다. 먼저 용존산소 변화에 따라 산소소비량을 변화시켜 산소스트레스에 대응하는 그룹이 있으며, 이들은 산소순응자(Oxygen-Conformer)라고 지칭된다. 반면 산소조절자(Oxygen-regulator)는 광범위한 용존산소 농도에 걸쳐 일정하게 산소소비 유지를 시도하여 산소 스트레스에 대응할 수 있다고 한다(Le Moullac et al., 2007). 본 연구의 시험생물인 참굴은 Oxygen-regulator로 알려져 있으며, Tran et al.(2000)은 참굴은 용존산소 감소 시 혈중 산소포화도를 일정하게 유지하기 위한 적응으로 펌프작용을 핵심기작으로 이용한다고 보고하였다. 펌프작용에 의한 여수율 증가로 아가미에선 더 많은 양의 산소교환이 이루어지고 조직으로의 산소공급이 증가하여 산소소비량이 유지될 것이다. Riisgard et al.(2014)은 여수율의 증가와 감소는 각각 폐각운동의 증가와 폐각과 관련이 있다고 보고하였으며, MacDonald et al.(2009)은 일부 이매패류 중에서 수관을 이용해 여수율을 조절할 수 있다고 보고하였다. 이상의 문헌에 의하면, 산소조절자에 포함되는 참굴은 용존산소가 낮아질수록 산소소비량 유지를 위해 폐각운동이 활발해지는 것으로 판단된다. 또한, 참굴의 경우 수관을 가지지 않아 여수량 증가를 위해 폐각운동에 더 의존할 것으로 생각된다. 또한, 빈산소상태가 지속되었을 때 나타난 참굴의 폐각반응은 산소임계치에 도달하여 산소소비량의 현저한 감소로 인해 활력이 저하되어 폐각상태를 선택한 것으로 보인다.

다.

한편 빈산소수는 고수온으로 인한 성층형성에 의해 하계에 빈번하게 발생한다. 빈산소와 고수온에 의해 이매패류의 폐각운동에 미치는 영향을 확인하기 위해 두 요인에 따른 참굴의 폐각운동을 측정하였다. 실험은 수온조건이 다른 두 Group을 이용하였고, 두 Group 모두 빈산소 환경을 조성해 주었다. Group-C는 수온을 15℃로 설정하였고, Group-D는 수온은 30℃로 설정하여 총 24시간 동안 참굴의 폐각운동을 측정하였다. Fig. 17은 빈산소 상태를 24시간 유지하였을 때 관찰된 참굴의 폐각운동이다. Fig. 17의 (a), (b)의 수온조건은 각각 15℃, 30℃이며, 그림을 통해 빈산소에 노출된 참굴의 폐각운동에 대한 수온의 영향을 비교하였다. 실험결과, 두 그룹 모두 Fig. 15의 빈산소 상태에서 보인 폐각운동과 유사한 형태의 폐각운동이 관찰되었다. Group-C, Group-D는 각각 26 ± 5 회 hr^{-1} , 26 ± 5 회 hr^{-1} 의 폐각운동을 보여 차이가 나타나지 않았으며, 이를 Fig. 18에 나타내었다. 폐각유지기간의 경우, Group-C에서 짧게는 1시간에서 길게는 12시간까지 지속되었고, Group-D는 0.2 ~ 1시간 정도 지속되었다. 폐각운동 후 폐각을 유지하다 다시 개각하여 폐각운동을 보였으며, 폐각 후 다시 폐각운동이 나타나는 주기는 Group-D가 Group-C보다 빠르게 나타났다. ‘2-2. 염분 노출실험 결과’에서 높은 수온은 단일 환경요인(저염수)에서 나타난 폐각운동을 활성화시키고 폐각주기를 짧게 하는 효과가 있었다. 빈산소수의 경우, Group-D에서 폐각주기의 감소는 나타났으나 폐각운동은 단일 환경요인(Group-C)과 차이가 없는 것으로 나타나, 수온은 빈산소와 결합하여 단순히 상가된 효과를 보이지 않았다. 이와 관련하여 두 환경요인이 패류의 생리화학적 적응 및 행동에 미치는 복합적 영향을 보면, 동죽은 동절기와 하절기에 각각 가장 낮은 산소소비량과 가장 높은 산소소비량이 나타나, 동죽의 산소소비량과 수온은 양의 상관관계를 보였다(이, 1996). 피조개

의 경우 고수온에서 용존산소에 대한 내성이 약한 것으로 Shin et al.(2008)은 보고하였다. 이외에도 Le Moullac et al(2007)에 의하면, 저산소 환경에 노출된 참굴은 수온이 높을수록 pyruvate kinase(PK)에 대한 phosphoenolpyruvate carboxykinase(PEPCK)의 비율 및 Electron transport system(ETS) 활성이 증가하였다. 높은 PK/PEPCK 값은 상대적으로 낮은 무산소능력(Anaerobic capacity)을 의미하며, 높은 ETS activity는 높은 산소요구량을 나타낸다. 즉, 참굴은 수온이 높을수록 저산소 환경에서 생존할 수 있는 능력이 저하되며, 산소요구량이 증가하였다(Le Moullac et al, 2007). 반면 Mattews and McMahon(1999)에서 다양한 온도에 순응된 얼룩말홍합의 용존산소에 대한 내성을 시험한 결과, 얼룩말홍합의 저산소에 대한 내성시간은 순응온도의 증가에 따라 유의하게 증가하였다. 이상의 보고를 종합하면, 빈산소 환경에서의 높은 수온은 대개 생물의 용존산소 내성 및 생존능력을 감소시키는 부정적인 영향이 강조되었으나, 높은 수온에서의 순응은 오히려 생물의 용존산소 내성한계를 증가시켰다. 본 연구에서도 두 환경요인이 복합적으로 작용하여 패각운동에 영향을 준 것으로 생각된다. 한편 빈산소 환경에 노출된 비교적 활동성이 큰 이매패류에서 유발되는 패각운동 반응에 대한 흥미로운 연구결과가 있었다. Chantler(2006)은 저산소에 노출된 가리비의 행동반응을 알아보았고, 그 결과 가리비는 저산소 환경에서 빠르고 연속적인 패각운동을 보였으며 이는 수류를 일으켜 이동하여 저산소 환경으로부터 벗어나려는 행동과 관계있었다. Suzuki et al.(2011)에 의하면 키조개는 저산소 환경에서 ‘single close-open’이라 불리는 패각운동이 빈번하게 발생하였으며, 이러한 패각운동은 도피(creep-out)행동과 관련 있다고 보았다. 이상의 결과는 이매패류 종마다 생활사와 서식환경에 따라 빈산소에 다양하게 반응하여 나타나며, 패각운동이 각 이매패류에 대해 훌륭한 생리학적 지표가 될 수 있을 것으로

로 생각된다.

이상의 결과에 의하면, 참굴은 용존산소를 빈산소 수준까지 감소시켰을 때 빠른 폐각운동을 보였고, 이어서 폐각상태가 나타났다. 이러한 폐각운동 양상은 용존산소 감소 시 산소소비량 유지를 위해 폐각운동이 활발해진 것으로 보이며, 그 이후 산소 임계치에 도달하면 감소된 에너지 요구량을 유지하기 위해 폐각반응을 보이는 것으로 생각된다. 빈산소수는 우리나라 연안역에서 연례적으로 반복되는 이상현상으로, 연안양식어장에 피해를 주고 있다. 본 실험에서 관찰된 이상패턴을 통해 연안양식장에서의 빈산소수 조기경보가 가능할 것으로 기대된다.



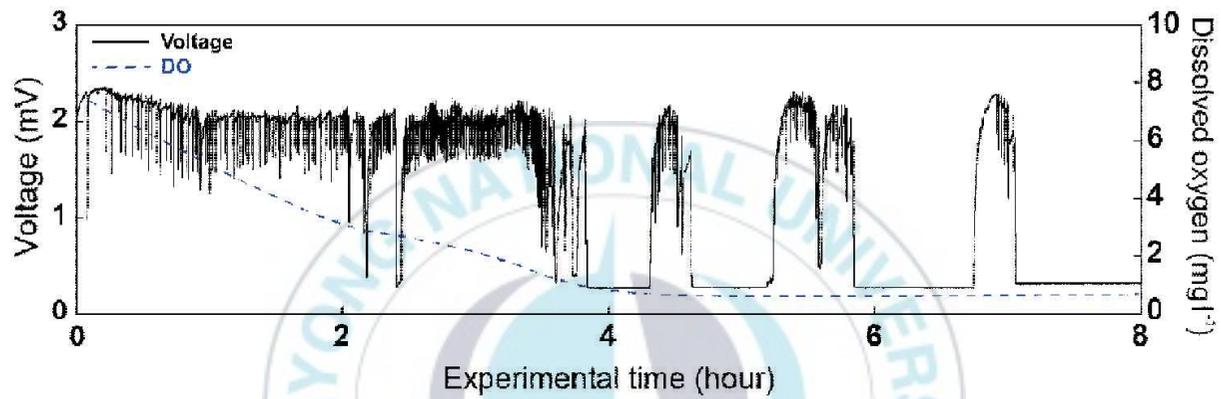


Fig. 16. SVMs of Pacific oysters in response to change of Pacific oysters in response to change of DO concentration.

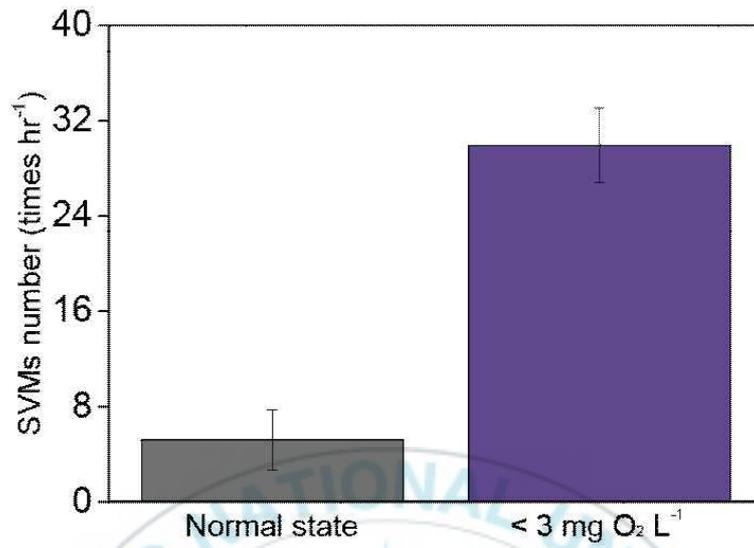
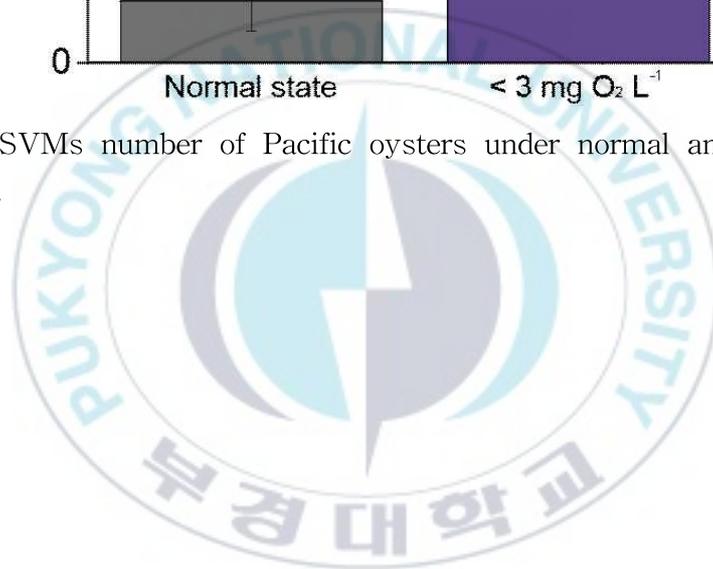


Fig. 17. SVMs number of Pacific oysters under normal and hypoxia condition.



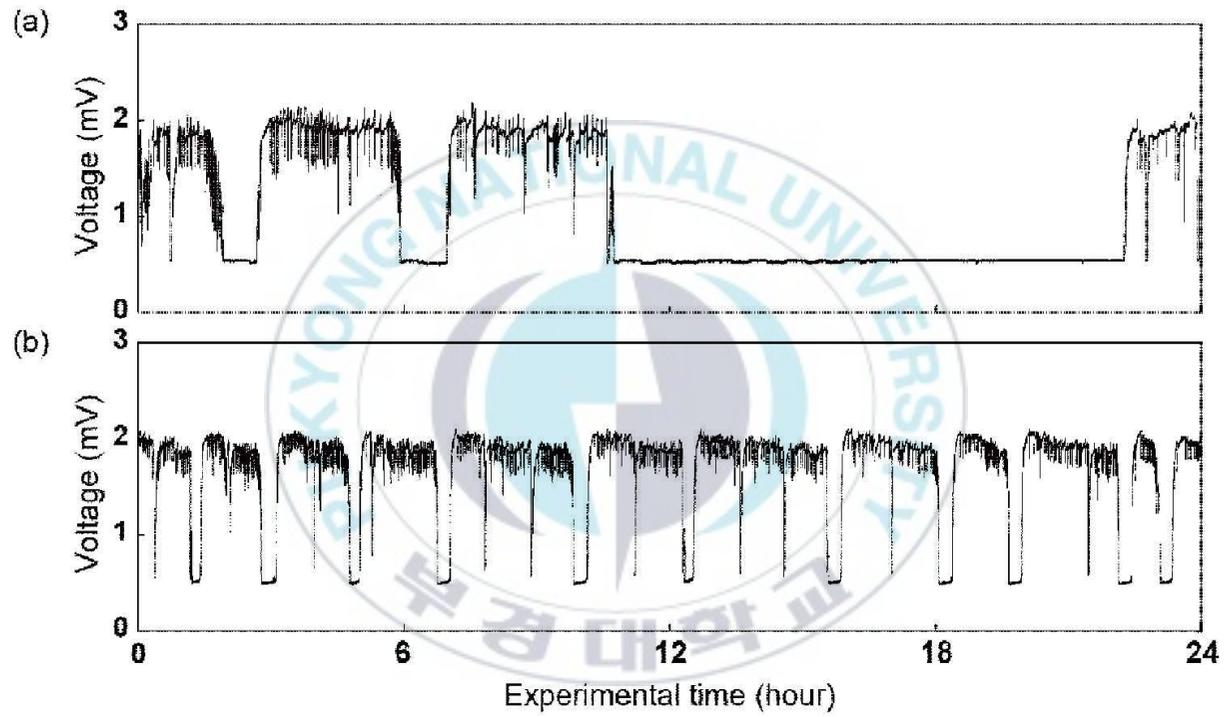


Fig. 18. SVMs of Pacific oysters in response to hypoxic water (a) with 15°C; (b) with 30°C.

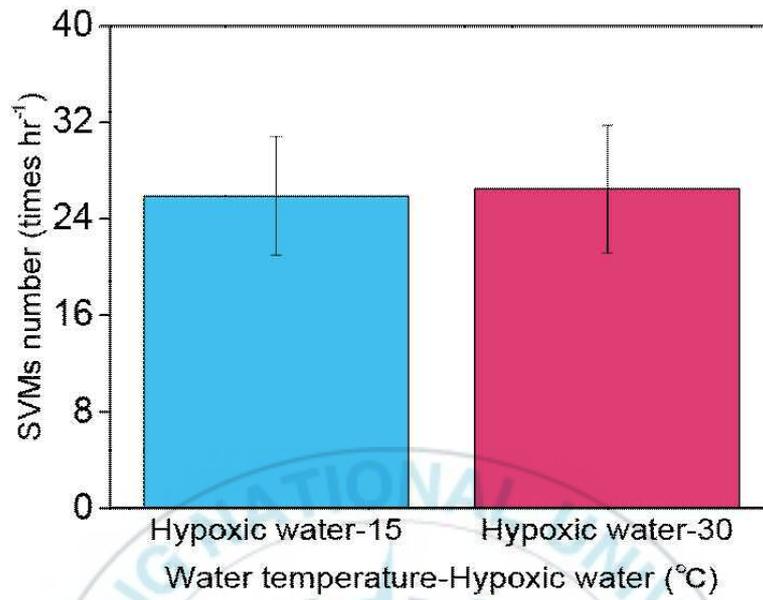


Fig. 19. SVMs number of Pacific oysters under hypoxic water in response to water temperature.

2-4. *Isochrysis galbana* 노출실험 결과

이매패류는 해수 중 유기 및 무기 쇠설물(detritus)의 입자를 섭이하는 여과섭식자로, 이들은 점액 분비 및 섬모작용을 통해 섭취하기 위한 입자물질을 입 쪽으로 운반하는 반면, 불필요한 입자물질은 소화작용을 통해 대변과 함께 위분(pseudofaeces)으로 응집되어 배출할 수 있다. 특히 참굴은 장시간 폐각상태를 유지할 수 있기 때문에 섭이 과정은 여수율은 호흡보다 먹이포집과 더 큰 관련을 가진다고 보고된 바 있다(Kim., 1995). 이처럼 먹이생물은 이매패류의 폐각운동에 영향을 주고, 이매패류의 생리에 큰 영향을 주는 대표적인 생물학적 환경요인이다. 본 장은 참굴의 먹이생물이 폐각운동에 미치는 영향을 알아보기 위해 실험을 수행하였다. 먹이생물로는 굴 유생의 먹이생물로 권장되는 무독성조류 *I. galbana*를 선택하였으며, *I. galbana*는 *A. fundyense*, *A. affine* 및 *C. polykrikoides*에 대한 대조구로 사용하였다.

*I. galbana*의 세포밀도에 따른 참굴의 폐각운동 및 세포밀도 별 폐각운동 빈도를 각각 Fig. 19와 Fig. 20에 나타내었다. 각 세포밀도에서 나타난 참굴의 폐각운동을 관찰하고 세포구간에 따른 폐각운동을 비교하였다. 참굴은 *I. galbana* 노출실험기간 동안 폐각운동의 변화가 관찰되지 않았다. 모든 노출구간에서 약 4 회 hr^{-1} 의 폐각운동이 나타났으며 세포밀도에 상관없이 일정한 폐각운동이 관찰되었다. *I. galbana* 노출실험에 나타난 참굴의 폐각운동 양상 및 빈도는 참굴의 일반적인 폐각운동의 범위 내에 포함되며, '1. 참굴(*C. gigas*)의 일반적인 폐각운동 특성'에서 나타난 참굴의 전형적인 폐각운동 특성을 만족하였다. (어떤 특성을 만족하였는지, 토의 추가) Tran et al.(2010)은 참굴이 *A. minutum*에 노출되었을 때 유도된 폐각운동 변화를 알아보기 위해 이에 대한 대조구로 *I. galbana*를 사용하여 실험을 수행하였다. 그 결과, 무독성 먹이생물인 *I. galbana*은 참굴의 개폐운

동이나 개각 지속시간에 영향을 주지 않았으며, *I. galbana*는 참굴의 폐각 운동에 영향을 주지 못하였다. 본 실험은 Tran et al.(2010)의 보고와 같이 *I. galbana*은 참굴의 폐각운동에 영향을 미치지 않았으며, *I. galbana*는 참굴에 대해 구별되는 폐각운동 변화를 일으키지 않는 것으로 판단된다.

이상의 결과에 의하면, 무독성 조류 *I. galbana*는 그 어떤 세포밀도에 서도 참굴의 폐각운동에 미치는 영향을 찾을 수 없었다.



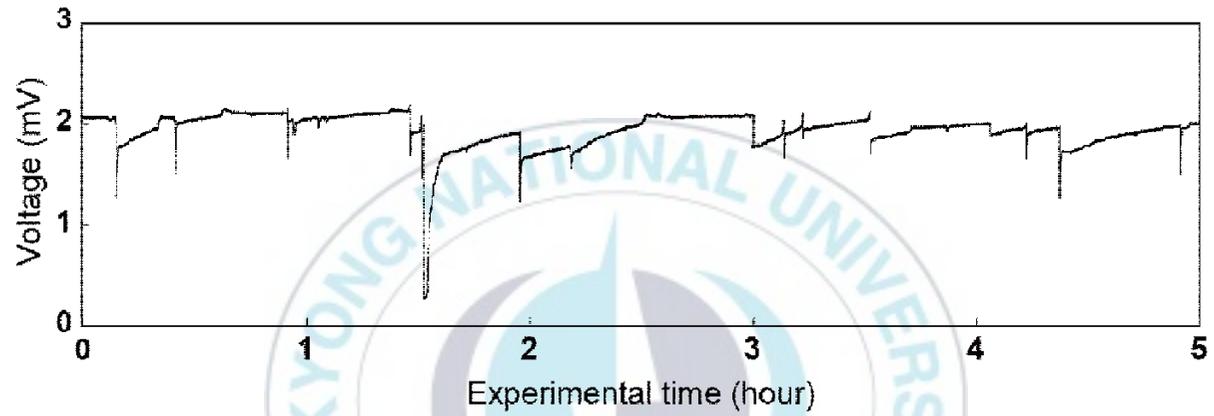


Fig. 20. SVMs of Pacific oysters in response to change of *Isochrysis galbana* cell density.

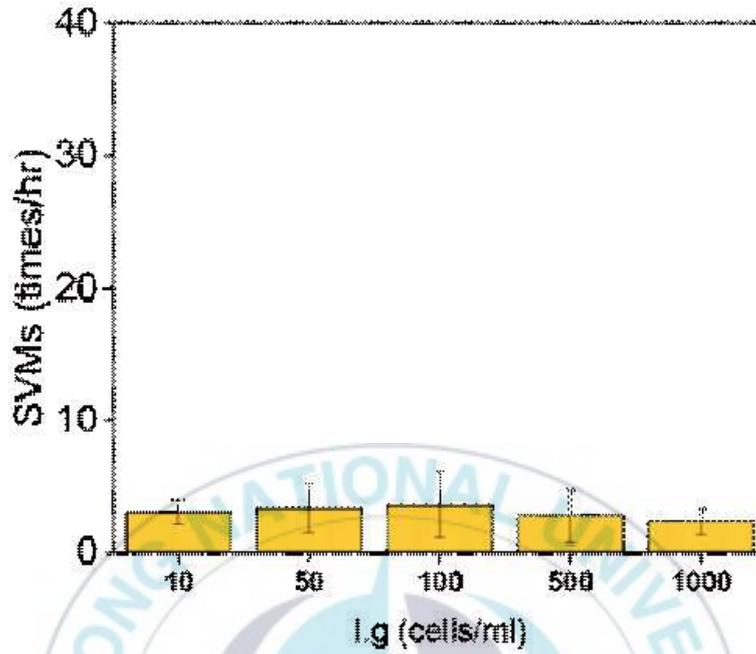


Fig. 21. SVMs number of Pacific oysters in response to change of *Isochrysis galbana* cell density.

2-5. *Alexandrium fundyense* 및 *A. affine* 노출실험 결과

Alexandrium 속은 강한 신경독소(neurotoxins)인 삭시톡신(saxitoxin, STX)을 포함하는 유독성분 복합체인 마비성패류독소(Paralytic Shellfish Poisoning, PSP)을 생산하는 유독 와편모조류를 다수 포함한다(Taylor et al., 2003). PSP에 의한 패류의 독화는 신경독소를 생산하는 유독 미세조류를 패류가 섭취하여 발생하며, 패류를 먹이로 하는 생물에서도 PSP가 검출되기도 한다. PSP는 생물의 신경 및 근육섬유에서 나트륨 이온전도도를 차단하여 신경마비를 유도하고, 먹이사슬로 인한 2차 피해는 공중보건상 심각한 위협을 초래한다(Chand, 2009). 일반적으로 패류 체내 PSP 독소함량 정도는 PSP 원인종의 상대적 풍부도(abundance)와 세포독성에 따라 달라지는 것으로 인식되고 있다(Bricelj and Shumway, 1998). 즉, PSP 원인종의 세포밀도가 높을수록 더 높은 생물 체내 PSP 축적률로 인해 패류독화의 위험성이 높아질 수 있음을 의미한다. 또한, 유해·유독 미세조류의 존재가 패각운동을 포함한 이매패류의 행동에 영향을 주었다고 보고된 바 있다(Hegaret et al., 2007; Damien et al., 2009). 본 장은 유독 와편모조류 *A. fundyense*와 독성이 보고되지 않은 *A. affine* 노출실험을 통해 PSP를 유발하는 *Alexandrium* 적조 지시 가능성을 파악하였다.

I. galbana, *A. fundyense*, *A. affine*의 세포밀도에 따른 참굴의 패각운동 및 세포밀도 별 패각운동 빈도를 각각 Fig. 21와 Fig. 22에 나타내었다. *A. fundyense* 노출농도 100 cell ml⁻¹까지 평균 7 ± 2 회 hr⁻¹의 일정한 패각운동을 보였으며, 500 cell ml⁻¹, 1000 cell ml⁻¹에 노출되었을 때 각각 14 ± 6 회 hr⁻¹, 25 ± 9 회 hr⁻¹의 패각운동이 나타났다. 특히 500 cell ml⁻¹ 이상의 노출구간에서 패각운동이 급격하게 증가하였으며, 이러한 패각운동의 증가는 실험수조에 미세조류를 주입한 직후 집중적으로 나타났기 때문에 참굴은 *A. fundyense* 노출에 신속하게 반응하는 것으로 생각된다. *A.*

affine 노출실험의 경우, 10 cell ml⁻¹, 50 cell ml⁻¹, 100 cell ml⁻¹ 에서 각각 8 ± 2 회 hr⁻¹, 12 ± 3 회 hr⁻¹, 11 ± 2 회 hr⁻¹의 패각운동이 나타났으며, 500 cell ml⁻¹, 1,000 cell ml⁻¹에서 각각 26 ± 6 회 hr⁻¹, 33 ± 7 회 hr⁻¹의 급격한 패각운동의 증가가 나타났다. 또한 500 cell ml⁻¹, 1,000 cell ml⁻¹에서 미세조류를 주입한 직후 패각운동이 집중적으로 증가하였으며, 이는 *A. fundyense* 노출실험에서 나타난 패각운동 양상과 일치한다. 실험 전 PSP 원인종인 *A. fundyense*에 대한 특이적 패각운동이 나타날 것으로 예상하였으나, 독성이 보고되지 않은 *A. affine*에서도 *A. fundyense* 노출실험에서 나타난 결과와 유사한 패각운동 변화가 관찰되었다. 그러나 *Alexandrium* 세포밀도 증가에 따른 패각운동 변화는 대조구로 사용된 *I. galbana*에서는 나타나지 않았으므로, 모든 미세조류에 대한 일반적인 반응은 아닌 것으로 판단된다.

Alexandrium 속이 참굴의 패각운동에 미치는 영향에 대한 타 연구결과는 다음과 같다. Haberkorn et al.(2011)는 *Alexandrium* 속에 포함되는 *A. minutum*의 세포밀도와 참굴 소화관에서의 PSP 독화 정도, 그리고 패각의 움직임 사이의 관련성을 연구하였다. 그 결과 참굴은 *A. minutum* 노출농도 증가에 따라 패각운동이 증가하였으며 개각유지기간과 PSP 독화는 양의 상관관계가 나타났다. 또한 Tran et al.(2010)의 보고에서도, 참굴은 *A. minutum*에 노출되었을 때 다른 미세조류 중에서는 관찰되지 않았던 패각운동의 증가가 나타났으며, 이를 세포밀도 증가에 따라 높아진 PSP 위험에 대한 저항반응으로 해석하였다. 보고된 두 연구결과는 본 연구의 *Alexandrium* 속 세포밀도 증가에 따라 참굴의 패각운동이 증가하는 경향과 상응하였다. 그러나 *A. affine*은 독성이 보고되지 않은 종으로, 본 연구결과에 의하면 PSP 독소 이외의 *Alexandrium* 속이 참굴의 패각운동의 변화를 유발할 수 있는 요인이 존재할 수 있을 것으로 생각된다.

일반적으로 이때패류가 먹이 입자를 선택하는 데 몇 가지 기작이 단독으로 혹은 결합되어 작용할 수 있다고 인식되어왔다. 먹이의 크기가 작을수록 입자 포획의 효율이 높아질 수 있으며, 먹이의 질에 의해서도 입자 포획에 영향을 줄 수 있다. Ward and Shumway(2004)에 의하면 같은 크기라도 규조류보다 와편모조류를 우선적으로 포획했다고 보고하였으며, Lopes-Lima et al.(2014)은 이러한 선호를 생식주기와 관련된 생리적 과정과 관련 있는 것으로 보았다. 또는 이미 섭취한 먹이 중 소화관에서 차별 흡수(differential absorption)를 통해 먹이를 선택할 수 있다(Shumway et al., 1985). 실제로 Laabir et al.(2007)의 보고에서, 참굴은 *A. catenella* 및 *A. minutum*에 노출시켰을 때 대조구인 *Thalassiosira weissflogii*과 차이가 없는 제거율(Clearance rate)이 나타났으나, 굴의 배설물과 위분에서 *A. catenella*과 *A. minutum*의 temporary cysts 발견하였으며, *T. weissflogii*는 굴 체내에서 완전하게 소화되었다고 보고하였다. 이상의 문헌에 의하면, 선별적 입자포획 및 차별 흡수와 같은 먹이 입자 선택 기작이 쾌각운동 변화를 유발하는 하나의 이유가 될 수 있을 것으로 생각된다.

이상의 실험결과, 참굴은 *A. fundyense* 100, 500 cell ml⁻¹ 구간에서 급격한 쾌각운동의 증가가 관찰되었고, 100 ~ 500 cell ml⁻¹ 세포농도 수준에서의 *A. fundyense*은 참굴의 쾌각운동에 영향을 주는 것이 나타났다. *A. affine*의 경우도 마찬가지로 100 ~ 500 cell ml⁻¹ 세포농도 수준에서의 참굴의 쾌각운동에 영향을 미쳤다. *Alexandrium* 속 세포밀도 증가에 따른 쾌각운동이 증가할 때는 세포를 주입한 초기에 집중적으로 나타났으며, 대조구인 *I. galbana*에선 관찰되지 않았다. 우리나라에서 PSP에 따른 이때패류 출하 금지는 대부분 춘계에 발생하며, 이는 *A. tamarense*가 비교적 낮은 수온의 춘계에 휴면포자(resting cyst)로부터 발아하여 출현하기 때문으로 알려져 있다(Kim et al., 2016). 또한 굴 양식장의 출하는 9월부터 익년

5월까지 행해지고 있기 때문에, 패류독화 피해를 막기 위한 BMS는 춘계에 한시적으로 운용하여도 PSP 원인종인 *Alexandrium*의 출현을 감지할 수 있을 것으로 생각된다.



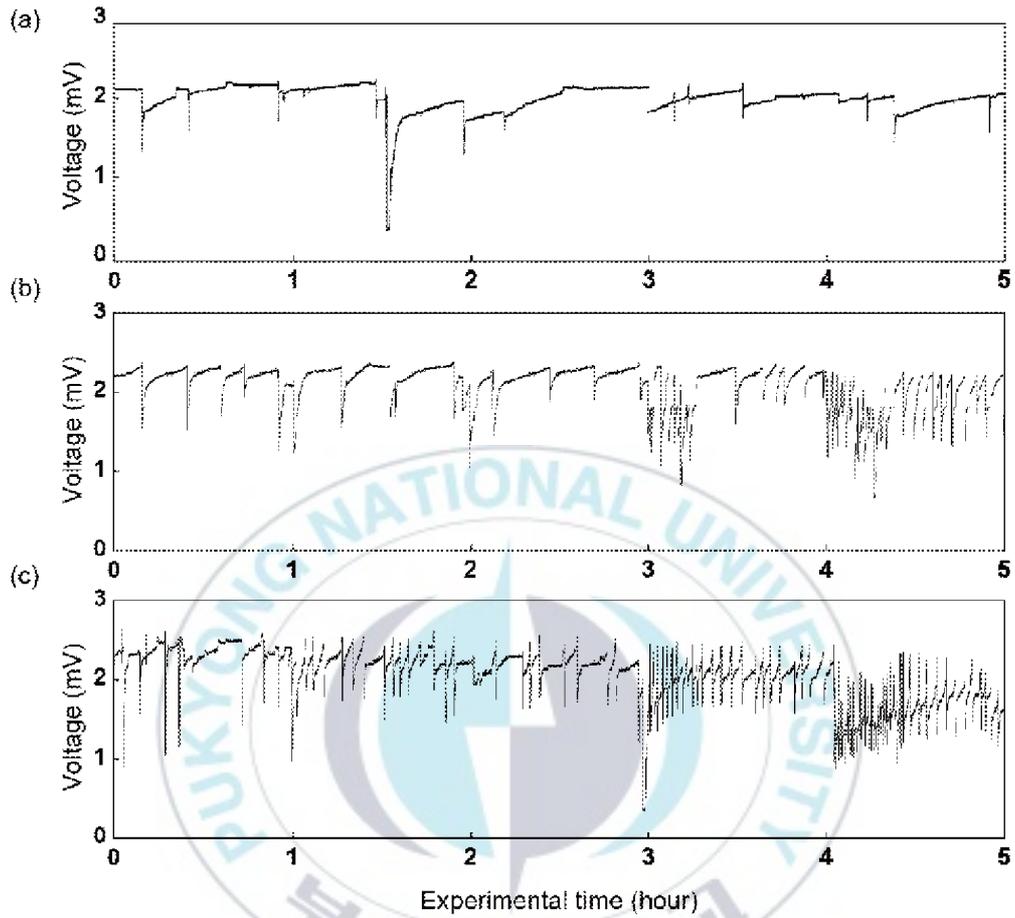


Fig. 22. SVMs of Pacific oysters in response to change of (a) *Isochrysis galbana*, (b) *Alexandrium fundyense*, (c) *Alexandrium affine* cell density.

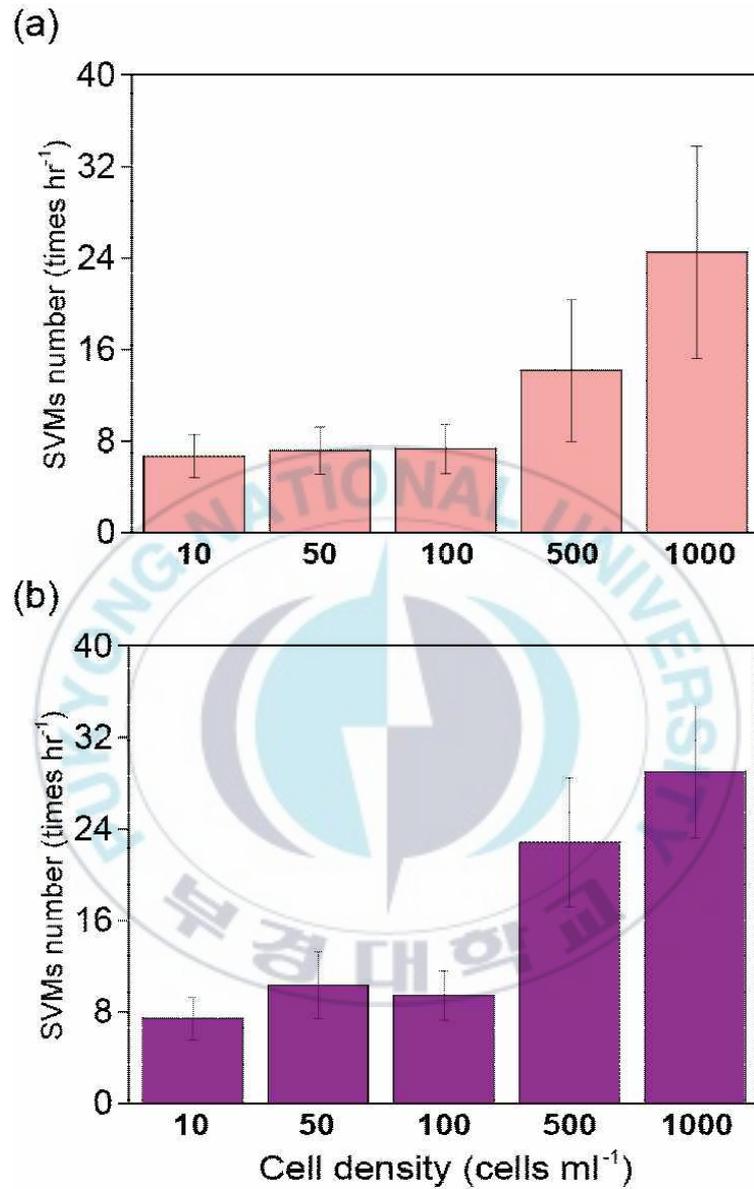


Fig. 23. SVMs number of Pacific oysters in response to change of (a) *Alexandrium fundyense*, (b) *Alexandrium affine* cell density.

2-6. *Cochlodinium polykrikoides* 노출실험 결과

*C. polykrikoides*은 독성은 없지만 다량의 점액 물질을 함유하고 있어 이 점액이 어류의 아가미에 붙어 어류의 호흡장애를 일으키는 유해조류다. 우리나라에서 *C. polykrikoides* 적조는 주로 남해 연안 양식어장에 걸쳐 발생하여 피해를 일으키며, *C. polykrikoides* 적조 발생범위는 광역화되고 있는 추세다(이 등., 2015). 2013년 하계에는 전 해역에 걸쳐 발생한 *C. polykrikoides* 적조에 의해 247억에 달하는 심각한 수산피해를 입었으며, 전 세계적으로도 *C. polykrikoides* 적조에 의한 피해는 계속 보고되고 있다(Kudela et al., 2012). Tang and Gobler(2009)에 의하면, 이매패류에 대한 *C. polykrikoides*의 독성은 *C. polykrikoides*의 세포밀도 및 노출시간, 그리고 상대적 풍도 등에 달려있으며, *C. polykrikoides* 적조는 이매패류의 개체 수를 감소시킬 수 있음을 시사했다. 이외에도 이매패류 유생에 대한 *C. polykrikoides* 독성이 *A. tamarensis*같은 독성 와편모조류의 독성보다 더 심각한 것으로 본 보고도 있다(Yan et al., 2003). *C. polykrikoides* 적조는 다양하고 복잡한 요인에 의해 영향을 받기 때문에 적조발생을 사전에 예측하는 것이 대단히 어려우며, 발생 이후 환경피해 및 경제적 손실을 줄이기 위한 방법도 마땅치 않다. 따라서 *C. polykrikoides* 적조는 조기에 감지하여 빠른 대처로 피해를 최소화하는 것이 중요할 것으로 생각된다. PSP 원인종 및 *H. circularisquama* 등의 유해조류와 폐각운동의 관련성은 몇몇의 문헌에서 보고되어 있으나(Nagai et al., 2006; Damien et al., 2009), *C. polykrikoides* 에 대한 연구는 거의 전무하다. 본 장은 *C. polykrikoides* 세포밀도에 따른 참굴의 폐각운동 변화를 파악하여, *C. polykrikoides* 경보 가능성을 확인하고자 한다.

*C. polykrikoides*에 노출된 참굴의 폐각운동 및 세포밀도 별 참굴의 폐각운동 빈도는 각각 Fig. 23와 Fig. 24에 나타내었다. 노출된 *C.*

*polykrikoides*의 세포밀도는 순서대로 10, 100, 1000 cells ml⁻¹이며, 이를 통해 노출된 세포농도 별 참굴의 폐각운동 특징을 파악하였다. 실험결과 가장 눈에 띄는 특징으로, 참굴은 노출된 *C. polykrikoides*의 세포밀도가 높을수록 더 긴 시간동안 폐각을 유지하였다. 노출된 *C. polykrikoides* 세포농도 순으로 참굴은 평균 4. ± 1 시간, 10 ± 4 시간, 14 ± 6 시간 동안 폐각을 보였고, *C. polykrikoides* 세포밀도가 높을수록 총 폐각기간이 증가하였다. 또한, 폐각 전 개각사이 거리의 감소가 함께 관찰되었다. *C. polykrikoides*을 제외한 미세조류 노출실험의 경우, 10 cells ml⁻¹ 실험구간에서 나타난 폐각운동과 참굴의 일반적인 폐각운동과의 차이를 발견할 수 없었다. 다른 미세조류 노출실험에서는 낮은 세포밀도는 참굴의 폐각운동에 영향을 주지 못하였다. 반면 참굴은 낮은 세포농도의 *C. polykrikoides*에서도 영향을 받아 폐각반응을 보였다. 이는 참굴이 다른 미세조류와 비교하여 *C. polykrikoides*에 더 민감하게 반응하는 것으로 생각된다. 참굴은 10 cells ml⁻¹의 *C. polykrikoides*에 노출 시 평균 4 ± 2 회 hr⁻¹의 폐각운동을 보였으며, 때때로 30분 동안 14 회 hr⁻¹ 가량 집중적으로 폐각운동이 나타났다. 위의 폐각운동은 깊고 빠르게 개폐하는 양상을 보였고, 세 농도 모두에서 이 같은 양상의 폐각운동이 나타났고 1000 cells ml⁻¹에서 가장 두드러졌다. 참굴의 폐각운동은 10 cells ml⁻¹에서 4 ± 2 회 hr⁻¹, 100 cells ml⁻¹에서 9 ± 5 회 hr⁻¹ 그리고 1000 cells ml⁻¹에서 17 ± 9 회 hr⁻¹이 나타나 세포밀도 증가에 따라 폐각운동이 증가하는 경향이 나타났다. *C. polykrikoides* 노출실험에서 나타난 이상패턴은 폐각유지기간의 증가, 폐각 전 개각거리 감소, 불균등한 폐각운동 등을 특징을 가졌으며, 이는 ‘2-5. *Alexandrium fundyense* 및 *Alexandrium affine* 노출실험 결과’와 차별되는 반응으로 *C. polykrikoides* 종에 대한 정성적 감지가 가능할 것으로 판단된다.

이상의 실험결과, 참굴은 낮은 밀도의 *C. polykrikoides* 노출에서도 민감하게 반응하여 폐각과 불균등한 폐각운동, 그리고 폐각 전 개각거리 감소가 관찰되었고, 이 같은 반응을 *C. polykrikoides* 적조 감지를 위한 이상패턴으로 보았다. 국립수산과학원에서 *C. polykrikoides*에 대한 적조주의 보와 적조경보를 발령하는 기준 농도는 각각 100 cells ml⁻¹과 1,000 cells ml⁻¹로, 각 세포밀도에서 나타난 이상패턴을 활용하여 *C. polykrikoides* 출현을 지시할 수 있을 것으로 보인다. 굴 양식장뿐만 아니라 연안의 양식어장에 적용하여 큰 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.



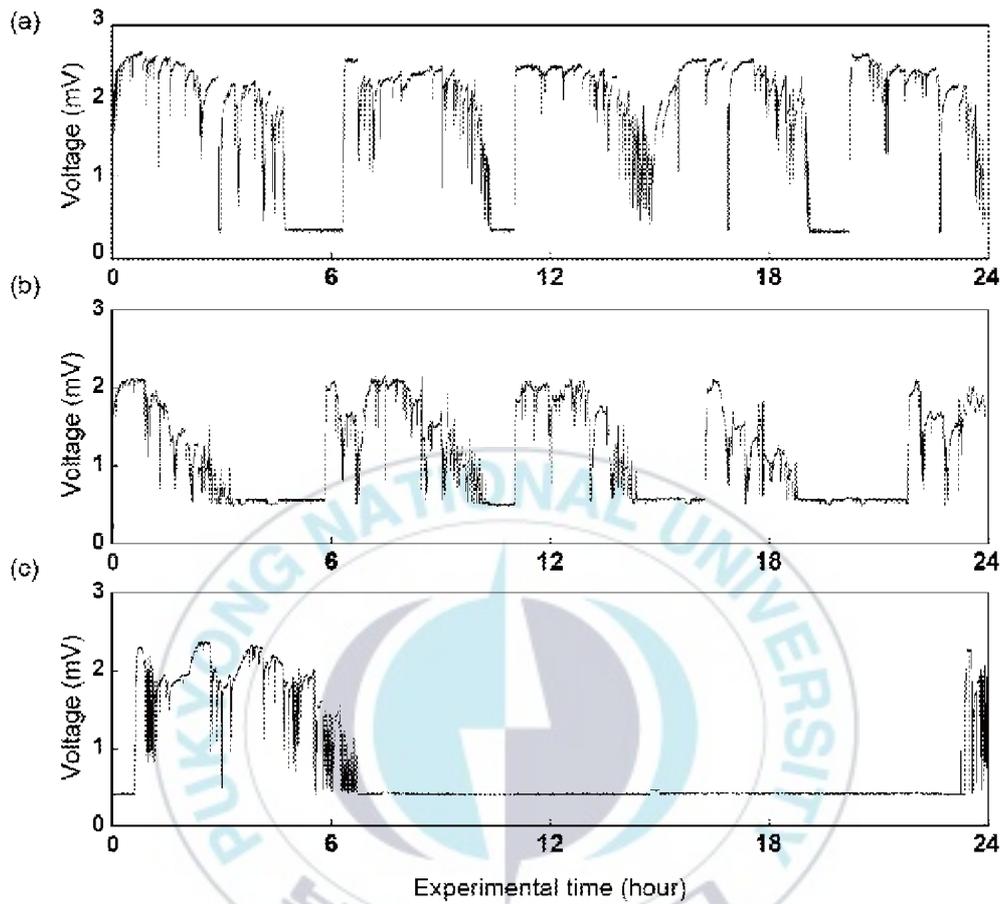


Fig. 24. SVMs of Pacific oysters in response to *Cochlodinium polykrikoides* at (a) 10 cells ml⁻¹, (b) 100 cells ml⁻¹, (a) 1000 cells ml⁻¹.

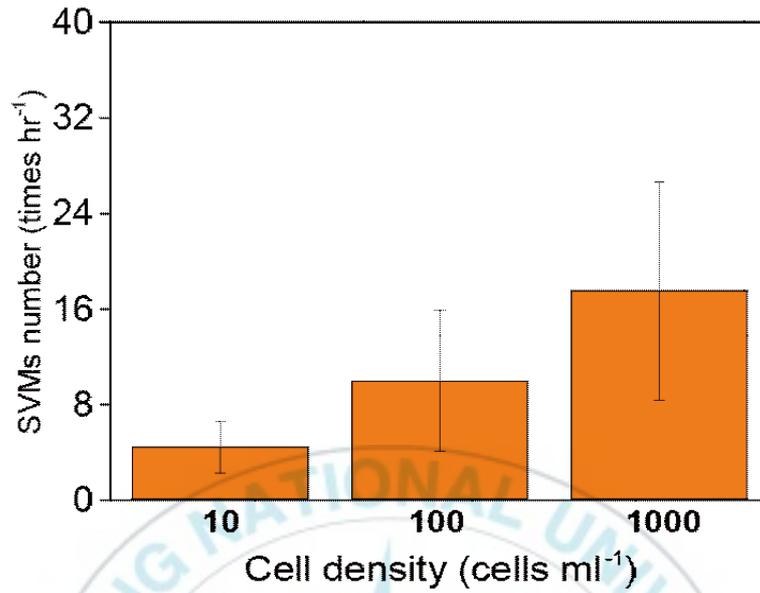


Fig. 25. SVMs number of Pacific oysters in response to change of *Cochlodinium polykrikoides* cell density.

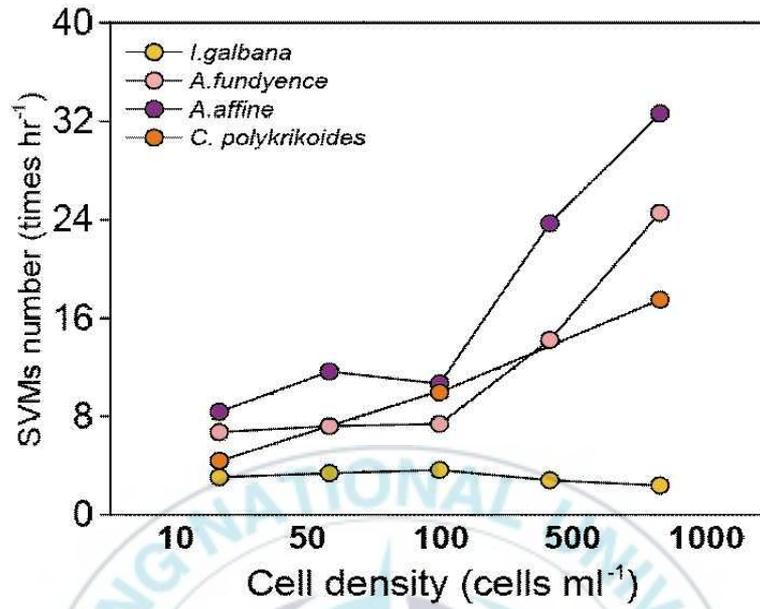


Fig. 26. SVMs number of Pacific oysters according to experiment species.

3. 이상해양현상에 따른 참굴의 폐각운동 변화 측정(현장실험)

실내 수조실험을 통해 단일 환경요인에 대한 참굴의 정확한 반응을 관찰할 수는 있으나, 실제 해양환경에서는 다양한 환경요인들이 복합적으로 작용한다. 복수오염원에 대한 이상해양환경 별 참굴의 폐각운동을 이해하고 수조실험으로 파악된 이상패턴을 검증하기 위해 현장실험을 수행하였다. 실험은 이상해황환경이 발생하는 하계에 실시되었다.

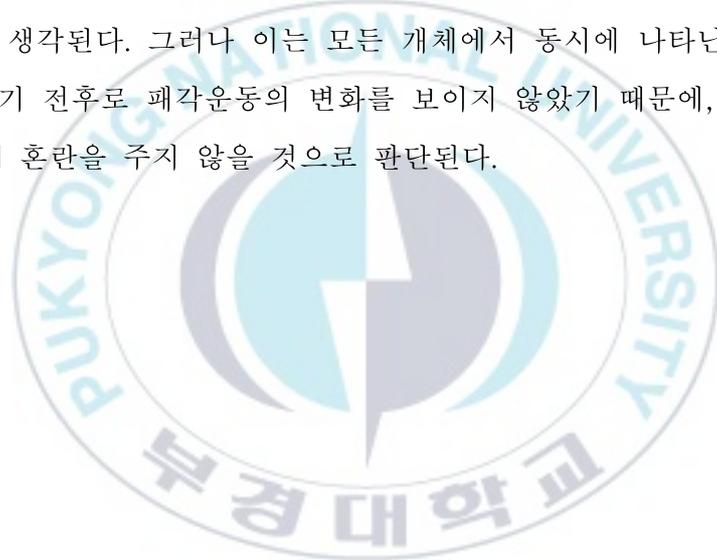
3-1. 참굴의 일반적인 폐각운동 특성

본 장은 현장실험에서 참굴이 보이는 일반적 폐각운동, 즉 정상상태에서의 참굴의 폐각운동을 이해하고 실험실에서 도출한 참굴의 전형적인 폐각운동의 양상과 대응되는지 확인하였다.

현장과 실험실에서 측정된 일반적인 참굴의 폐각운동은 Fig. 26에 나타내었다. 현장에서 참굴은 개각상태에서 빠르게 폐각을 닫은 후 천천히 개각하는 폐각운동을 보였다. 이는 '1. 참굴(*C. gigas*)의 일반적인 폐각운동 특성'에서 나타난 참굴의 폐각운동 양상과 유사하였다. 2016년과 2017년에는 각각 4 ± 3 회 hr^{-1} , 9 ± 2 회 hr^{-1} 였으며, 실험수조의 경우 6 ± 2 회 hr^{-1} 로 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다($p > 0.01$). 한편 일부 참굴 개체에서 때때로 휴지기가 관찰되었다. 실험수조에서도 이러한 휴지기가 관찰되었으나, 현장 및 수조실험에서 나타난 휴지기 지속시간은 다소 차이가 있었다. 실험실에서는 짧게는 15분에서 최대 6시간의 휴지기가 관찰된 반면, 현장에서는 약 1시간의 휴지기가 관찰되었다. 또한 실험실에서는 휴지기가 관찰된 시기의 유사성을 찾을 수 없었으나, 현장의 경우 휴지기는 간조시기에 높은 비율로 관찰되었다. Tran et al(2011)에 의하면 참굴의 폐각행동은 달과 태양의 상대적인 위치(조석주기) 및 일주리듬을 따랐고, 대조기간보다 소조기간에 폐각상태를 더 오래 유지하였다고 보고되었

다. 또한 García-March(2008)의 연구에서 키조개는 대체적으로 야간에 폐각을 닫았고 때때로 12 시간 이상 폐각상태를 유지하였으며, 이는 일주리듬 및 월주리듬을 따른다고 보고하였다. 현장에서 나타난 참굴의 폐각반응도 조석주기와 관련성을 보였으며, 이는 내인성리듬을 따른 결과로 생각된다.

이상의 결과로 현장과 실험실에서의 참굴의 폐각운동의 양상 및 빈도는 유사하게 나타났다. 반면 휴지기가 나타난 시기 및 유지기간은 현장과 실험실에서 다른 특징을 보였으며, 현장에서는 내인성리듬에 영향을 받은 결과로 생각된다. 그러나 이는 모든 개체에서 동시에 나타난 반응이 아니며, 휴지기 전후로 폐각운동의 변화를 보이지 않았기 때문에, 이상패턴을 적용하는데 혼란을 주지 않을 것으로 판단된다.



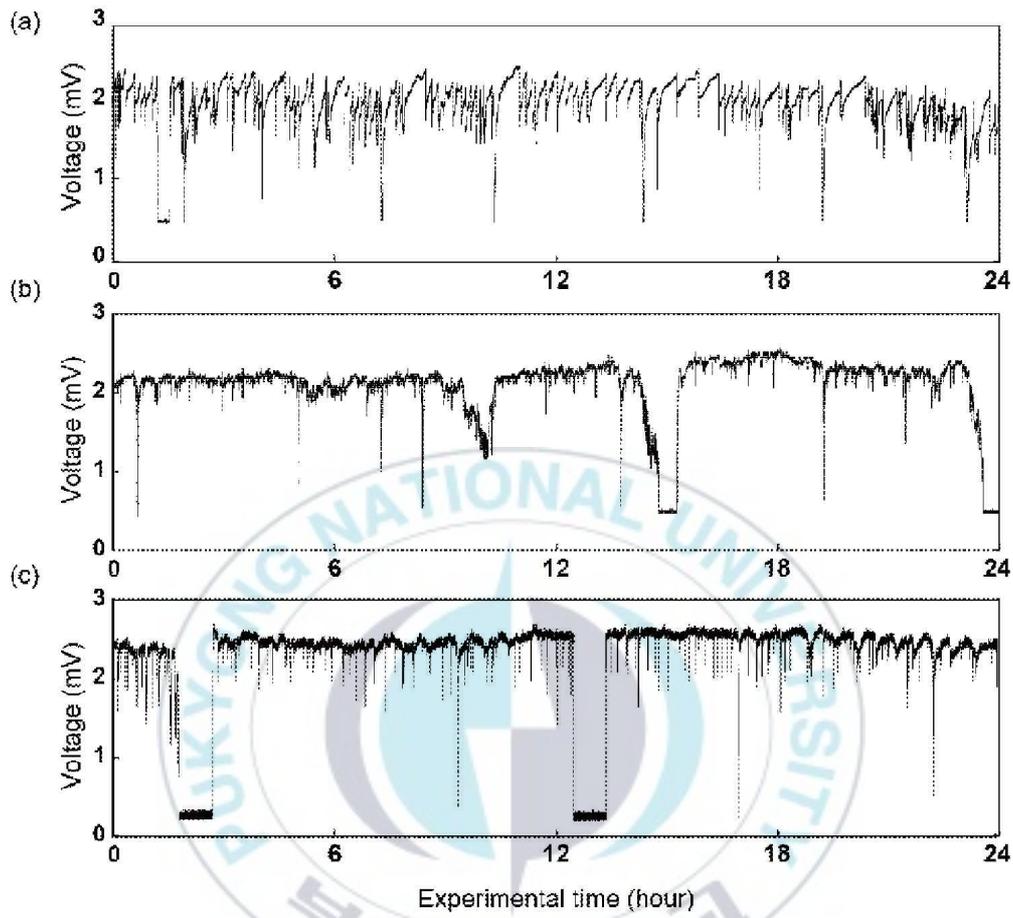


Fig. 27. Normal SVMs of (a) laboratory and field experiment (b) in 2016, (c) in 2017.

3-2. 2016년 하계(빈산소수 발생시)

가막만은 우리나라 남해안 중앙에 위치하는 내만으로, 만 입구에는 크고 작은 섬들이 위치하고 있어 거의 폐쇄적인 형태를 가진다고 알려져 있다(Lee, 2015). 가막만의 지형적 특징으로 인해, 하계의 내만 수괴는 해양 표층의 수온 상승과 담수유입으로 성층이 잘 발달하며, 오목한 해저지형인 북부 내만에서는 정체성이 강한 저층수가 출현하는 것으로 보고된 바 있다(Lee and Cho, 1990). 본 장은 2016년 가막만 현장실험에서 이상해황이 발생하였을 때의 참굴의 폐각운동 변화를 파악하여 수조실험 결과와 비교 및 BMS 가능성을 검증하였다.

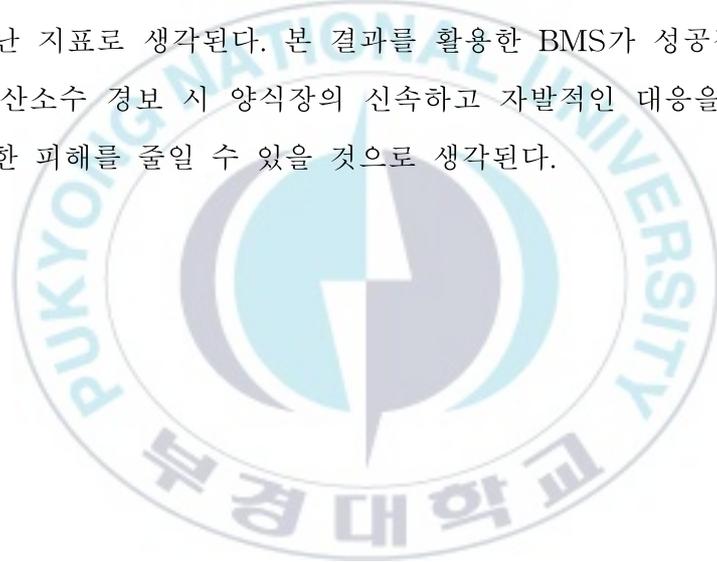
국립수산과학원의 빈산소 속보에 따르면, 2016년 5월 30일 가막만 북측의 첫 빈산소수 발생을 기점으로 6월 20일까지 빈산소수의 발생 범위 및 강도가 증가한 후 지속되었으며, 8월 2일 관측된 무산소에 가까운 강한 빈산소수는 8월 22일 조사까지 지속된 후, 9월 1일 소멸하였다. 적조생물의 경우 2016년 8월 15일 여수 백야도 부근해역에 *C. polykrikoides* 출현, 8월 16일 여수 함구미~개도~자봉~월호수도 수역에 코클로디니움 출현한 이후 강한 조류와 바람의 영향으로 주변해역으로 확산되긴 하였으나 현장 실험이 수행된 인근 해역에서의 적조생물 출현은 보고되지 않았다. 따라서 2016년 현장실험 동안 실험해역에선 빈산소수가 발생하였고 다른 이상해황은 없었던 것으로 보이며, 자세한 사항은 현장측정 자료를 이용하여 고찰하였다. 현장실험 동안의 환경변화 및 참굴의 폐각운동 변화는 Fig. 27에 나타내었다. 현장의 환경변화를 살펴보면, 염분은 32.55 ~ 32.78 psu의 범위를 보여 염분은 현장실험 동안 큰 변화 없이 일정한 범위를 유지하였다. 수온의 경우 26.8 ~ 28.9℃의 범위를 보여 뚜렷한 변화가 있었으며, 수온 변화는 조위 변화에 대응되었다. 용존산소도 주기적으로 변화하는 것이 관찰되었으며, 이 변화는 조위 주기와 일치하는 특징을 보였다. 이는 조석에

의한 결과로, 해수면이 하강할 때 수온이 감소하고 저층에 형성된 빈산소수에 노출되어 용존산소가 감소함, 다시 해수면이 상승함에 따라 수온증가와 함께 용존산소가 증가하는 것으로 생각된다. 또한 8월 28일 성층이 깨진 결과 수온변화와 용존산소 변화가 나타나지 않은 것으로 판단되며, 실제로 국립수산과학원이 보고한 빈산소수 소멸 시기와 일치한다.

현장실험 기간 중 참굴은 용존산소의 변화에 반응하여 폐각운동의 변화가 관찰되었다. 이는 참굴의 폐각운동 변화양상과 변화가 관찰되는 시기가 용존산소 변화와 정확히 일치하는 것을 통해 추정하였다. 용존산소가 감소하여 빈산소 상태가 되었을 때, 모든 참굴 개체들이 폐각을 닫는 반응이 나타났고, 다시 용존산소가 증가함에 따라 참굴은 폐각을 열어 폐각운동을 시작하였다. 이는 '2-3. 빈산소 노출실험 결과'에서 나타난 폐각운동 특징과 유사하였다. 폐각은 약 6시간 동안 지속되었고, 폐각반응이 관찰된 시기 및 시간은 현장에서 용존산소가 $2 \text{ O}_2 \text{ mg l}^{-1}$ 이하로 측정된 시기와 시간에 일치하였다. 폐각운동 빈도의 경우 빈산소 노출 전후로 증가하는 경향을 보였다. Fig. 28는 노출 전후 1시간 동안 측정된 참굴의 폐각운동을 용존산소 변화와 함께 나타내었다. 그림에서 빈산소 발생 전후 1시간 동안 폐각운동은 증가하는 특징이 나타났다. 또한 용존산소가 기존수준으로 회복되었을 때, 폐각운동도 평소의 상태로 되돌아오는 것이 관찰되었다. 빈산소 환경에 노출된 8월 26일과 8월 27일에는 용존산소의 변화와 폐각운동의 변화가 대응되었으나, 빈산소수에 노출되지 않은 8월 28일에는 폐각반응 및 폐각운동의 증가가 나타나지 않았다. 빈산소 환경에서 나타난 폐각운동 변화는 조석주기에 의한 영향이 아닌 용존산소의 변화에 따라 폐각운동이 반응한 결과로 생각된다. 실내 실험수조에서 수행된 '2-3. 빈산소 노출실험 결과'에서는 폐각을 닫는 시기에 개체 간 지연이 존재했으나, 현장실험에서는 지연 현상 거의 없이 일시에 폐각반응이 나타났다. 그 이유는 수조실

험에 비해 현장은 조석에 의해 주변 환경이 급격하게 변하기 때문에 빈산소수에 대한 신속한 반응이 나타난 것으로 생각되며, 이러한 특징은 현장에서 BMS 운영 시 높은 확률의 빈산소수 경보를 내릴 수 있을 것으로 판단된다.

실험결과에 의하면, 현장해역의 저층에서 빈산소수가 발생하였으며, 용존산소 감소에 따른 폐각운동의 증가와 이어서 나타나는 폐각반응은 빈산소수에 노출되었을 때 관찰되는 빈산소수에 대한 반응으로 보았다. 특히 빈산소수에 노출되었을 때 나타나는 일련의 폐각작용은 빈산소수를 감지하기에 뛰어난 지표로 생각된다. 본 결과를 활용한 BMS가 성공적으로 구축된다면, 빈산소수 경보 시 양식장의 신속하고 자발적인 대응을 통해 빈산소수에 의한 피해를 줄일 수 있을 것으로 생각된다.



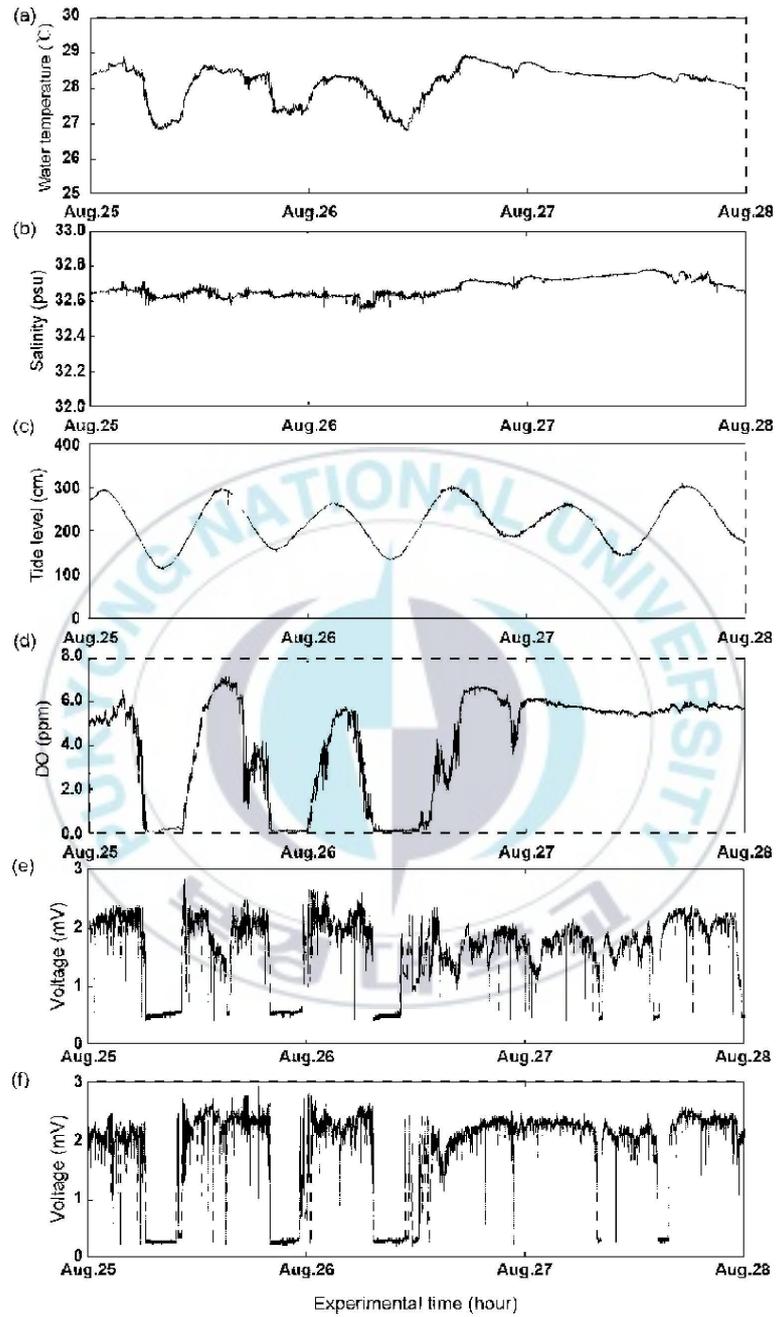


Fig. 28. SVMs and Environmental data in Gamak Bay during field experiment. (a) Water temperature, (b) Salinity, (c) Tide level, (d) DO, (e) and (f) is the SVMs.

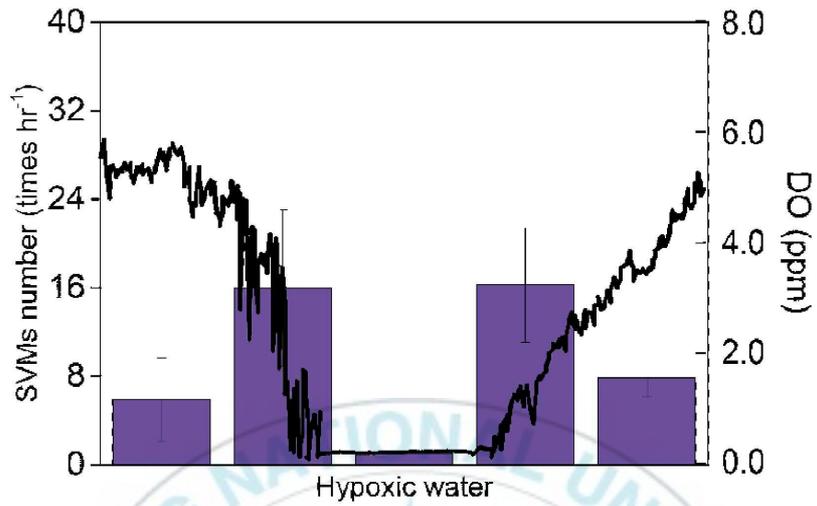


Fig. 29. SVMs number of Pacific oysters before and after exposure to hypoxic water in Gamak Bay.

3-3. 2017년 하계(적조 발생 시)

통영 연안은 대부분 수심 10 m 미만으로, 외해 쪽으로 주변에 많은 섬들로 둘러싸여 있으며, 양식업이 발달한 곳으로 알려져 있다(Park et al., 2000). 통영 연안의 수심 연간 어장운영으로 인해 현재까지 특정 시기에 적조가 반복적으로 발생하고 있어, 이에 따른 통영지역의 심각한 해양 오염이 보고된 바 있다(Kang et al., 2003). 본 장에서는 2017년 통영 현장실험에서 이상해황이 발생하였을 때의 참굴의 폐각운동 변화를 파악하여 수조실험 결과와 비교 및 BMS 가능성을 검증하였다.

국립수산과학원에서 제공하는 적조예보정보에 따르면 학림부근에서 8월 7일 *Alexandrium* sp.가 900.0 ~ 1500 cell ml⁻¹ 수준으로 발생하였다. 8월 9일 조사에서 *Alexandrium* sp.가 400.0 ~ 4000 cell ml⁻¹, 8월 11일 조사에서는 *Alexandrium* sp.가 450.0 ~ 7000 ml⁻¹이 관측되었다. 이를 통해 학림해역에서 이 기간 동안 *Alexandrium* sp.의 세포밀도가 증가하였을 것이라 가정하였으며, 이를 바탕으로 적조가 발생한 기간 동안의 폐각운동을 분석하였다. 또한 적조발생 전과 적조가 소멸한 후 나타난 폐각운동을 함께 비교하였다. Fig. 29에서는 적조발생 전과 적조발생시기, 그리고 적조가 소멸한 후에 측정된 참굴의 폐각운동을 1시간 간격으로 관찰된 폐각운동 횟수와 함께 나타내었다. 폐각운동 횟수는 하루 단위로 나타내 비교하였으며, 이는 Fig. 30에 나타내었다. 그림들을 통해 적조유무에 따른 참굴의 폐각운동을 비교하였다. 적조발생 전 나타난 평균 폐각운동 횟수는 각각 8 ± 4회 hr⁻¹, 9 ± 5회 hr⁻¹, 8 ± 5회 hr⁻¹ 이었다. 적조생물이 발생한 8월 7, 9, 11일에 나타난 폐각운동은 각각 13 ± 8회 hr⁻¹, 22 ± 16회 hr⁻¹, 33 ± 20회 hr⁻¹이었다. 적조가 소멸한 뒤 측정된 폐각운동은 9 ± 5 회 hr⁻¹, 8 ± 2 회 hr⁻¹, 7 ± 3 회 hr⁻¹로 유사하였다. 현장실험 결과 참굴은 적조 발생 전과

소멸 후의 패각운동은 변화가 없었으나, 적조생물 밀도가 증가함에 따라 패각운동이 증가하는 것이 확인되었다. 이는 유해적조 조류의 농도증가에 따라 패각운동이 증가하였던 실내 수조실험 경향과 일치한다. 또한 적조발생 시기의 패각운동은 특정 시간대에서 증가하고 다시 감소하는 것이 나타났다. 더욱이 실험기간 중 패각운동이 빠르게 증가한 것은 '2-5. *Alexandrium fundyense* 및 *Alexandrium affine* 노출실험 결과'에서 높은 세포밀도의 *Alexandrium* 속을 주입하였을 때 나타난 집중적인 패각운동 양상과 일치하였다. 위와 같이 한차례에 집중적으로 일어나는 패각운동의 증가는 높은 세포밀도의 환경에 단시간에 노출되었을 때 반응하여 나타나는 것으로 생각된다. 반면 적조 발생 전과 소멸 후 3일 동안 측정된 패각운동은 서로 간 차이가 없는 양상을 보였고, 특정 시간대의 패각운동 증가도 나타나지 않았으며, 일정한 운동이 나타났다.

2017년 현장에서 나타난 패각운동 변화 경향은 실험실에서 수행된 노출실험 결과와 일치하였다. 이러한 사항은 실내실험을 통해 도출된 이상 패턴은 현장에 적용 가능성을 시사하며, 현장실험으로 검증되지 못한 실내 실험 결과에 대한 신뢰성을 높여줄 수 있을 것으로 생각된다.

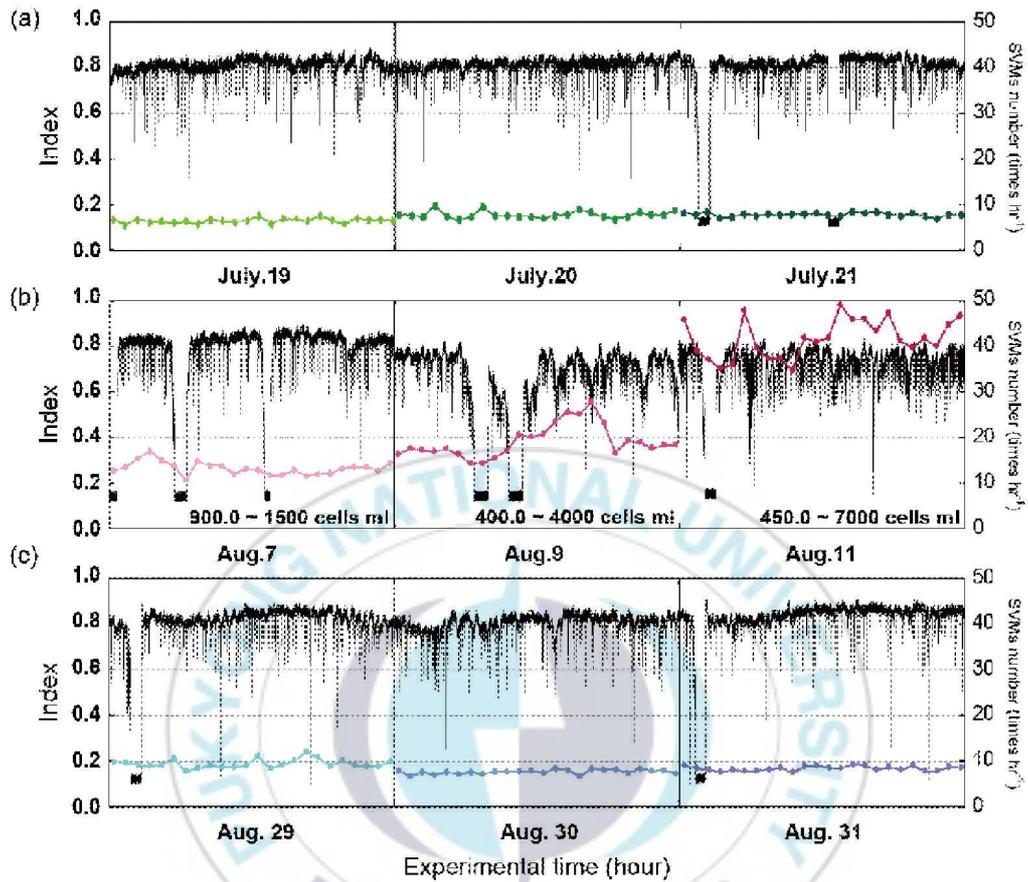


Fig. 30. SVMs of Pacific oysters (a) before occurrence of the *Alexandrium* bloom, (b) under the *Alexandrium* bloom conditions, (c) after outbreak of the *Alexandrium* bloom in Tongyeong. The black line indicates SVMs, and color lines indicate changes in SVMs number over time.

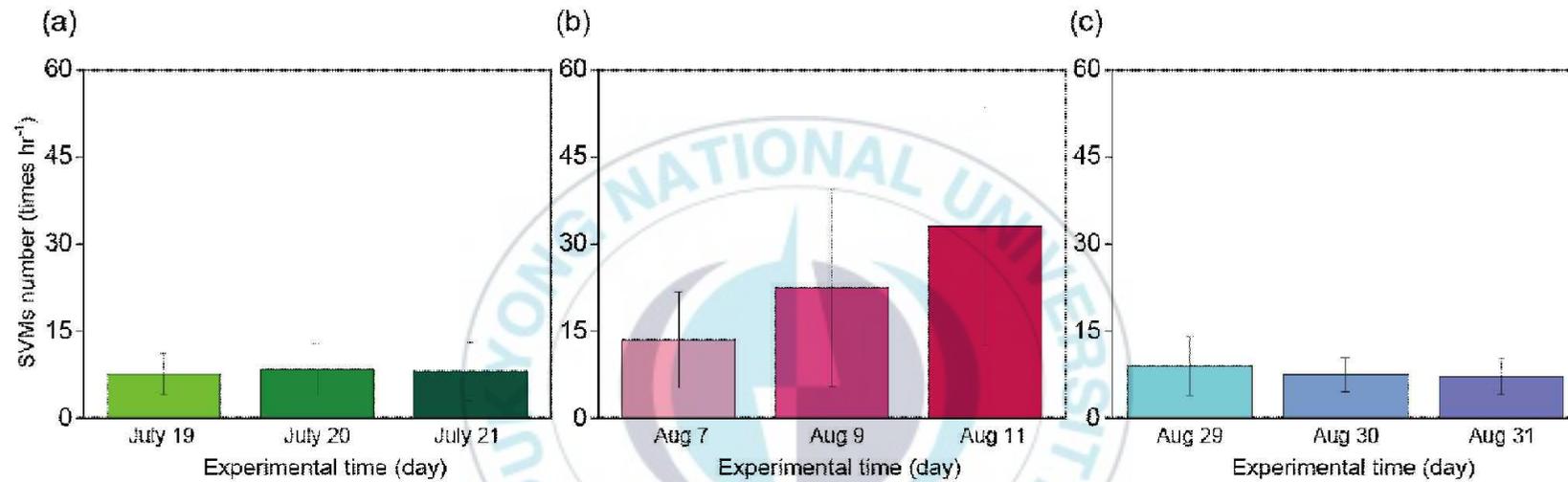


Fig. 31. SVMs numbers of Pacific oysters (a) before occurrence of the *Alexandrium* bloom, (b) under the *Alexandrium* bloom conditions, (c) after outbreak of the *Alexandrium* bloom in Tongyeong.

IV. 결론

연안에서 발생하는 이상해양환경은 주변 양식장 일대에 수산피해를 일으키며, 해마다 발생횟수와 피해규모가 증가하는 추세다. 우리나라는 연안의 다양한 해양환경 변화를 감지하기 위해 주요 양식어장에 관측부이를 운영하고 있으나, 생물학적 위해성을 반영하지 못한다는 한계가 있다. 생물이 받는 스트레스는 수산 피해와 직접 연결되기 때문에 수산피해를 근본적으로 해결하기 위해서는 이에 대한 이해가 필요하다. 이를 위해 이상해황을 감지하는 동시에 생물학적 위해성을 반영할 수 있는 생물의 행동반응을 이용하여 BMS를 시험하였다. 시험생물은 우리나라 패류양식생산량의 대부분을 차지하는 참굴이며, 생물의 행동반응으로는 패각운동을 선택하였다. 본 연구에서는 참굴의 일반적인 패각운동 특성을 밝히고, 이상 환경요인(고수온, 저염수, 빈산소수, 유해조류)에 따른 참굴의 패각운동 변화를 파악하였다. 또한, 일반적인 패각운동과 구분되는 특이적 패각운동을 이상패턴으로 도출하였으며, 현장에 적용하여 이상패턴 및 BMS 가능성을 검증하였다.

실험수조와 현장에서 참굴의 일반적인 패각운동을 살펴본 결과, 참굴은 빠르게 패각을 닫고 서서히 패각을 여는 움직임이 나타났다. 개각상태에서 폐각상태로 일시에 이행되었으며, 10분에 걸쳐 기존의 개각상태로 되돌아왔다. 이는 타 이매패류 종의 패각운동 양상과 상이하였으며, 위의 패각운동 양상을 참굴의 전형적인 패각운동 특징으로 보았다. 이외의 특징으로는 참굴은 일정시간 패각을 닫아 유지하는 휴지기를 가졌으며, 이는 실험수조와 현장 모두에서 관찰되었다. 실험수조에서는 참굴 개체에 따라 휴지기의 시간대 및 유지기간은 달랐으나, 현장에서 관찰된 휴지기는 주기성

을 보였다. 현장에서 휴지기는 약 1시간 동안 지속되었으며, 간조시기에 높은 비율로 관찰되었다. 이는 현장에 존재하는 조석주기 등의 환경주기가 참굴의 폐각운동에 영향을 준 것으로 생각된다. 그러나 휴지기는 간조시기마다 나타난 것은 아니며, 휴지기 전후로 폐각운동 변화는 관찰되지 않았다. 이에 따라 이상패턴을 적용하는데 혼란을 주지 않을 것으로 판단된다. 실험수조 및 현장에서 파악한 참굴의 일반적인 폐각운동은 이상패턴을 판가름하는 기준으로 사용되었다.

수온노출실험에서 참굴은 저수온(5°C)에서 폐각상태가 나타났으며, 10, 20, 30°C로의 수온증가에 반응하여 폐각운동이 활발해지는 경향이 나타났다. 특히 20°C와 30°C에서 일반적인 참굴의 폐각운동에 비해 각각 2 ~ 3배, 4배가량 활발해졌다. 이후 연속적인 수온증가는 결국 참굴의 폐각작용을 유도하였다. 이러한 이유는 수온내성한계에서의 대사저하에 따라 에너지를 보존할 수 있는 폐각상태를 선택한 것으로 판단된다. 실험결과, 참굴은 극심한 저온과 고온에서는 폐각하여 반응하였고, 수온증가에 따라 폐각운동이 활발해졌다. 순화온도 및 승온효과를 배제할 순 없으나 한계범위 이내의 수온증가는 폐각운동을 활성화시키는 효과가 있는 것으로 나타났다. 실험을 통해, 수온증가에 따라 빨라지는 폐각운동을 고수온을 지시하는 이상패턴으로 정하였다.

염분변화에 따른 참굴의 폐각운동을 살펴본 결과, 참굴은 20, 30 psu에서 일반적인 폐각운동과 차이가 없었으며, 10, 0 psu 전 구간에서는 폐각상태가 나타났다. 20 ~ 30 psu 범위의 염분은 참굴의 폐각운동에 영향을 주지 못하였으며, 10 psu 이하의 저염수에서 참굴은 폐각하여 극한 환경으로부터 생체를 보호하는 것으로 판단된다. 15°C의 저염수(15 psu)에서 참굴은 5 ~ 10 시간 정도의 폐각상태가 나타났으며, 먹이섭이 및 호흡을 위한 행동으로 간헐적으로 개각하여 둔화된 폐각운동이 나타났다. 이때의

폐각운동 속도는 일반적인 폐각운동에 비해 2배가량 감소된 값이다. 30°C의 저염수(15 psu)의 경우, 고수온(30°C)의 일반해수와 15°C의 저염수(15 psu)에서 나타난 폐각운동이 결합된 형태가 나타났다. 폐각상태는 0.2 ~ 1 시간 지속되었으며, 폐각운동 속도는 고수온에 비해 3배 느렸고, 15°C 저염수에 대해 3배 빨랐다. 이는 저염분(15 psu)과 고수온(30°C)이라는 환경자극이 복합적으로 작용하여 상가효과가 나타난 것으로 판단된다. 실험결과, 둔화된 폐각운동과 폐각이 반복되는 행동이 저염수를 지시하는 이상패턴으로 나타났다.

용존산소 농도에 따른 참굴의 폐각운동을 살펴본 결과, 참굴은 용존산소가 $3 \text{ O}_2 \text{ mg l}^{-1}$ 이하로 감소함에 따라 일반적인 폐각운동에 비해 5배 빠른 폐각운동이 나타났다. 이후 빈산소수($< 2 \text{ O}_2 \text{ mg l}^{-1}$)에 노출되면 빠른 폐각운동에 이어 폐각작용이 나타났다. 이와 같은 폐각운동 양상은 수조실험과 2016년 현장실험 모두에서 관찰되었다. 참굴은 용존산소가 감소되면 산소소비량을 유지하기 위해 폐각운동을 증가시키고, 산소 임계치에 도달하면 감소된 에너지 요구량을 유지하기 위해 폐각반응을 보이는 것으로 생각된다. 따라서 폐각운동의 증가와 이어서 나타나는 폐각반응을 빈산소 환경을 지시하는 이상패턴으로 보았다. 특히 빈산소수에 노출되었을 때 나타나는 일련의 폐각작용은 빈산소 환경을 감지하기에 뛰어난 지표가 될 것으로 생각된다.

미세조류 노출실험 결과, 참굴은 대조구로 사용된 *I. galbana* 노출실험기간 동안 폐각운동의 변화가 관찰되지 않았으며, 세포밀도에 상관없이 일정한 폐각운동이 나타났다. 반면, 참굴은 *A. fundyense* 및 *A. affine*의 세포밀도 100, 500 cell ml⁻¹에서부터 급격한 폐각운동의 증가가 관찰되었다. 폐각운동의 증가는 세포를 주입한 초기에 집중적으로 관찰되어 참굴은 *Alexandrium*에 민감하게 반응하는 것으로 생각된다. 2017년 현장실험에서

참굴은 현장의 *Alexandrium* 적조의 세포밀도가 높아질 때 패각운동의 증가가 관찰되었다. 이는 실내실험에서 나타난 이상패턴과 유사하였다.

C. polykrikoides 노출실험에서 가장 눈에 띄는 특징으로 참굴은 세포밀도 증가에 따라 폐각유지기간이 길어졌다. 100 cells ml⁻¹의 경우 약 40%, 1000 cells ml⁻¹에서 약 60% 비율로 폐각상태가 나타났다. 이외에도 폐각 전 개각거리 감소가 두드러지고, 깊고 빠른 불균등한 패각운동이 나타났다. 이 역시 대조구인 *I. galbana*에서는 관찰되지 않은 결과다. 이는 *Alexandrium*과는 차별되는 반응으로, *C. polykrikoides*에 대한 정성적 감지가 가능할 것으로 판단된다. 또한 국립수산과학원에서 적조주의보 및 적조경보를 발령하는 기준 농도는 각각 100 cells ml⁻¹, 1000 cells ml⁻¹로, 실험결과를 잘 활용한다면 *C. polykrikoides*에 의한 피해를 줄이는데 큰 도움이 될 것으로 생각된다.

본 연구결과를 바탕으로 연안 이상해양환경에 대한 참굴의 이상패턴을 도출하였으며, 이를 통해 조기경보 가능성을 확인하였다. 특히 저염수에서 나타난 특이적 패각운동과 실내실험 및 현장실험을 통해 검증된 빈산소수에 대한 이상패턴은 각 이상해황에 대해 훌륭한 지시자가 될 것으로 생각된다. 유해조류에서, *Alexandrium* 속에서 나타난 이상패턴은 봄철 PSP 피해를 줄이기 위해 활용할 수 있을 것으로 생각되며, *C. polykrikoides* 적조를 지시하는 이상패턴은 활용도가 높을 것으로 판단된다. 본 연구에서 도출된 이상패턴을 활용한 BMS가 현장에 구축된다면, 이상해황에 따라 조기경보가 발령될 것이며, 각 이상해황에 대한 대처를 통해 수산피해를 줄일 수 있을 것으로 기대된다.

V. 감사의 글

석사학위과정을 마치며 연안환경생태학 연구실에서 보낸 지난 대학원 생활이 생각납니다. 아무것도 모르던 학부 2학년 연구실에 들어와 선배들에게 실험을 배운 것이 아직 생생한데 어느덧 감사의 글을 적으며 만감이 교차합니다. 부족한 제가 석사학위논문을 마무리 지을 수 있는 것은 소중한 분들의 격려와 도움이 있어 가능하였습니다. 지면을 빌어 감사의 마음을 전하고자 합니다.

먼저, 석사과정 동안 아낌없는 가르침과 기회를 주신 오석진 교수님께 깊은 감사의 마음을 전합니다. 항상 저를 격려해주시고 이끌어주셔서 감사드립니다. 그리고 바쁘신 와중에 심사위원을 맡아주신 윤석현 박사님과 논문을 면밀히 검토해주시고 많은 조언을 주신 양한섭 교수님께 진심으로 감사드립니다. 학위논문 연구를 하는데 많은 도움과 관심을 주신 김대현 박사님 외 오션테크 팀께도 감사드립니다. 해양학이라는 학문을 가르쳐 주신 강용균 교수님, 이재철 교수님, 허성희 교수님, 문창호 교수님, 김석운 교수님, 박미옥 교수님께도 깊은 감사의 마음을 접합니다.

학부과정부터 석사과정을 보낸 연안환경생태학 연구실의 많은 선·후배님들께 감사드립니다. 특히 대학원생활을 함께 나누며 서로 버팀목이 되어준 지혜 언니, 경하에게 고마움을 전합니다. 저를 친동생처럼 아껴주고 응원해준 예지 언니에게도 고마움을 전합니다. 그리고 고등학교 때부터 지금까지 제 고민을 들어주며 응원해준 민정, 민경, 찬송, 옥진 친구들에게도 고마움을 전하고 싶습니다.

마지막으로 저를 믿어주시고 지지해주신 사랑하는 부모님과 가장 가까운 친구인 언니에게 감사하고 사랑한다고 전하고 싶습니다.

VI. 참고문헌

- 배승철, 김강웅, 임성률, 2001. 국내외 양식산업의 현황 및 전망. 한국양식학회지, **13**: 9-13.
- 이문옥, 김병국, 김종규, 2015. *Cochlodinium polykrikoides* 적조 발생시의 한국 남해안 고흥 연안의 해양환경 특징. 한국해양환경에너지학회지, **19**: 166.
- 이정열, 1996. 동죽(*Mactra veneriformis* REEVE)의 산소소비에 관한 연구. 한국수산과학회지, **29**: 614-619.
- 해양수산부. 2016. 해양수산통계연보
- 환경부. 2016. 물환경관리 기본계획 4대강 대권역 수질보전 기본계획('16~'25).
- 황재동, 조규대, 정희동, 박성은, 2003. 동중국해역에서 양자강 유출량 변화에 따른 저염확산 수치실험. 해양환경안전학회지, **9**: 53-57.
- Anestis, A., Lazou, A., Pörtner, H.O. and Michaelidis, B., 2007. Behavioral, metabolic, and molecular stress responses of marine bivalve *Mytilus galloprovincialis* during long-term acclimation at increasing ambient temperature. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol, **293**: 911-921.
- Angilletta Jr, M.J., Steury, T.D., and Sears, M. W., 2004. Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. Integr. Comp. Biol., **44**: 498-509.
- Bae, M.J. and Park, Y.S., 2014. Biological early warning system based on the responses of aquatic organisms to disturbances: a review. Sci. Total.

- Environ., **466**: 635-649.
- Bataller, E.E., Boghen, A.D. and Burt, M.D., 1999. Comparative growth of the eastern oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) reared at low and high salinities in New Brunswick, Canada. J. Shellfish. Res., **18**: 107-114.
- Borcherding, J., 2006. Ten years of practical experience with the Dreissena-Monitor, a biological early warning system for continuous water quality monitoring. Hydrobiologia, **556**: 417-426.
- Braby, C.E. and Somero, G.N., 2006. Following the heart: temperature and salinity effects on heart rate in native and invasive species of blue mussels (*genus Mytilus*). J. Exp. Biol., **209**: 2554-2566.
- Bradley, T.J., 2009. Animal osmoregulation, Oxford University Press.
- Bricelj, V.M. and Shumway, S.E. 1998. Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence, transfer kinetics, and biotransformation. Reviews in Fisheries Science, **6**: 315-383.
- Chand, P. Seafood Neurotoxins I: Shellfish Poisoning and the Nervous System. 2009. In Clinical Neurotoxicology. pp. 441-447.
- Chantler, P.D., 2006. Scallop adductor muscles: structure and function. Developments in Aquaculture and Fisheries Science., **35**: 229-316.
- Choi, J.D and Choi, Y.J., 2014. The Economic Feasibility Analysis of Grow out Phase Production of Oyster Farming by Rising Water Temperature. Ocean. Polar. Res., **36**: 157-163.
- Crain, C.M., Silliman, B.R., Bertness, S.L. and Bertness, M.D., 2004. Physical and biotic drivers of plant distribution across estuarine salinity gradients. Ecology, **85**: 2539-2549.

- Curtis, T.M., Williamson, R. and Depledge, M.H., 2000. Simultaneous, long-term monitoring of valve and cardiac activity in the blue mussel *Mytilus edulis* exposed to copper. *Mar. Biol.*, **136**: 837-846.
- Damien, T., Hansy, H. Philippe, S., Pierre, C. and Jean-Charles, M. 2009. Behavioral responses of *Crassostrea gigas* exposed to the harmful algae *Alexandrium minutum*. *Aquaculture*, **298**: 338-345.
- Edward, R., 2006, Hall-Effect Sensors Theory and Application. Newnes, Elsevier.
- Fukuda, S., Kang, I.J., Moroishi, J. and Nakamura, A., 2010. The application of entropy for detecting behavioral responses in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to different toxicants. *Environ. Toxicol.*, **25**: 446-455.
- García-March, J.R., Solsona, M.Á.S. and García-Carrascosa, A.M., 2008. Shell gaping behaviour of *Pinna nobilis* L., 1758: circadian and circalunar rhythms revealed by in situ monitoring. *Mar. Biol.*, **153**: 689-698.
- Haberkorn, H., Tran, D., Massabuau, J.C., Ciret, P., Savar, V. and Soudant, P., 2011. Relationship between valve activity, microalgae concentration in the water and toxin accumulation in the digestive gland of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to *Alexandrium minutum*. *Mar. Pollut. Bull.*, **62**: 1191-1197.
- Harris, R.R. and Ulmestrand, M., 2004. Discarding Norway lobster (*Nephrops norvegicus* L.) through low salinity layers - mortality and damage seen in simulation experiments. *ICES J. Mar. Sci.*, **61**: 127-139.
- Hegaret, H., Wikfors, G.H. and Shumway, S.E. 2007. Diverse feeding responses of five species of bivalve mollusc when exposed to three species of harmful algae. *Journal of Shellfish Research*, **26**: 549-559.

- Heilmayer, O., Digialleonardo, J., Qian, L. and Roesijadi, G., 2008. Stress tolerance of a subtropical *Crassostrea virginica* population to the combined effects of temperature and salinity. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.*, **79**: 179–185.
- Hiebenthal C, Philipp EE, Eisenhauer A, Wahl M., 2012. Interactive effects of temperature and salinity on shell formation and general condition in Baltic Sea *Mytilus edulis* and *Arctica islandica*. *Aquat. Biol.*, **14**: 289–98.
- Ishida, Y., Uchida, A. and Sako, Y., 1998. Genetic and biochemical approaches to PSP toxin production of toxic dinoflagellates. *NATO ASI SERIES G ECOLOGICAL SCIENCES*, **41**: 49–58.
- Jou, L.J., Lin, S.C., Chen, B.C., Chen, W.Y. and Liao, C.M., 2013. Synthesis and measurement of valve activities by an improved online clam-based behavioral monitoring system. *Comput. Electron. Agric.*, **90**: 106–118.
- Kang, Y.S., Kwon, J.N., Shon, J.K., Hong, S.J. and Kong, J.Y., 2003. Interrelation Between Water Quality and Community Structure of Phytoplankton around the Season of Red Tide Outbreak off the Coast of Tongyeong Area, 2002. *Fish. Aquatic. Sci.*, **36**: 515–521.
- Karlson, K., Rosenberg, R. and Bonsdorff, E., 2002. Temporal and spatial large-scale effects of eutrophication and oxygen deficiency on benthic fauna in Scandinavian and Baltic waters: a review. *Oceanography and Marine Biology*, **40**: 427–489.
- Kawai, H., Uchida, H., Kasuya, T. and Yamaguchi, H., 2006. Study on environmental restoration in enclosed water using the pearl oyster, *Pinctada fucata martensii*. preliminary study on the measurement of oyster's feeding and shell activities. *Annual Report of Nagasaki Institute*

- of Health Science and Environment Science., **52**: 19-23.
- Kim, C.J., Kim, C.H. and Sako, Y. 2005. Paralytic shellfish poisoning toxin analysis of the genus *Alexandrium* (Dinophyceae) occurring in Korean coastal waters. Fisheries Science, **71**: 1-11.
- Kim, C.W., Oh, H.J. and Shin, Y.K., 2013. Effects of Water Temperature on The Mass Mortality of Pacific Oyster, *Crassostrea gigas* in Gamak Bay. Korean J. Malacol., **29**: 245-250.
- Kim, J.S., Park, K.W., Youn, S.H., Lim, W.A., Yoo, W.D., Seong, K.A. and YIH, W.H 2016. Species Diversity of the Dinoflagellate Genus *Alexandrium* in the Coastal Waters of Korea during Summer 2013. Sea, **21**: 158-170.
- Kim, Y.J., 2017. Studies on the Harmful Algal Monitoring System using Pacific Oyster, *Crassostrea gigas* Biosensor. MSc thesis, Chonnam University, Yeosu.
- Kim, Y.S., 1995. Filtering rate model of farming oyster, *Crassostrea gigas* with effect of water temperature and size. Fish. Aquatic. Sci., **28**: 589-598.
- Kramer, K.J. and Botterweg, J., 1991. Aquatic biological early warning systems: an overview. Bioindicators and environmental management, 95-126.
- Kudela, R.M. and Gobler, C.J., 2012. Harmful dinoflagellate blooms caused by *Cochlodinium* sp.: global expansion and ecological strategies facilitating bloom formation. Harmful Algae, **14**: 71-86.
- Le Moullac, G., Quéau, I., Le Souchu, P., Pouvreau, S., Moal, J., René Le Coz, J. and François Samain, J., 2007. Metabolic adjustments in the oyster *Crassostrea gigas* according to oxygen level and temperature. Mar. Biol.

- Res., **3**: 357-366.
- Lee, D.R., Moon, J.W. and Choi, S.J., 2014. Performance Evaluation of Water Supply for a Multi-purpose Dam by Deficit-Supply Operation. J. Kor. Water. Resour. Assoc., **47**: 195-206.
- Lee, K.H. and Cho, K.D., 1990. Distribution of water temperature and salinity in Gamak Bay. Fish. Aquatic. Sci, **23**: 25-39.
- Lee, S.E. and Shin, H.C., 2015. The Influence of Water Temperature on Filtration Rates and Ingestion Rates of the Blue Mussel, *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia). Korean J. Malacol., **31**: 203-212.
- Lee, T., 2015. Sediment Oxygen Consumption Rate and Hydrogen Sulfide Release by Dissolved Oxygen Depletion in Hypoxic Area of the Gamak Bay, Korea. Journal of Wetlands Research, **17**: 293-302.
- Loosanoff, V.L., 1939. Effect of temperature upon shell movements of clams, *Venus mercenaria* (L.), Biol. Bull., **76**: 171-182.
- MacDonald, B.A., Robinson, S.M. and Barrington, K.A., 2009. Evaluating the use of exhalent siphon area in estimating feeding activity of blue mussels, *Mytilus edulis*. J. Shellfish. Res., **28**: 289-297.
- Marceau, F., 1909. Recherches sur la morphologie, et l'histologie, et la physiologie compares des muscles adducteurs des mollusques acphales. Archives de Zoologie expérimentale et générale., **2**: 295 - 469.
- Matthews, M.A. and McMahon, R.F. 1999. Effects of temperature and temperature acclimation on survival of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and Asian clams (*Corbicula fluminea*) under extreme hypoxia. Journal of Molluscan Studies, **65**: 317-325.
- Miossec, L., Le Deuff, R. M. and Gouilletquer, P. 2009. Alien species alert:

- Crassostrea gigas* (Pacific oyster). ICES cooperative research report, 299. MOF (Ministry of Ocean and Fisheries), 2016. Statistical Yearbook of Oceans & Fisheries. 417.
- Morse, J.C., Bae, Y.J., Munkhjargal, G., Sangpradub, N., Tanida, K., Vshivkova, T.S. and Yule, C.M. 2007. Freshwater biomonitoring with macroinvertebrates in East Asia. *Frontiers in Ecology and the Environment*. **5**: 33-42.
- Nagai, K., 2006. Research on means of alleviating damage by *Heterocapsa circularisquama* red tides and reddening adductor disease, causes of the mass mortalities of Japanese pearl oysters (*Pinctada fucata martensii*). Diss. PhD Dissertation, Kyushu University, Kyushu.
- Nagai, K., Honjo, T., Go, J., Yamashita, H. and Oh, S.J., 2006. Detecting the shellfish killer *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) by measuring bivalve valve activity with a Hall element sensor. *Aquaculture*, **255**: 395-401.
- Ngo, T.T., Sang-Gyun, K. and Kwang-Sik, P., 2002. Seasonal changes in reproductive condition of the Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg) from suspended culture in Gosung Bay, Korea. *Kor. J. Environ. Biol.*, **20**: 268-275.
- Oh, S.J., Lee, J.H. and Kim, S.Y., 2013. Bio-Monitoring System Using Shell Valve Movements of Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*)-I. Detecting Abnormal Shell Valve Movements Under Low Salinity Using a Hall Element Sensor. *J. Kor. Soc. Mar. Environ. Energy.*, **16**: 138-142.
- Ortmann, C. and Grieshaber, M.K., 2003, Energy metabolism and valve closure behaviour in the Asian clam *Corbicula fluminea*, *J. Exp. Biol.*, **206**:

4167-4178.

- Park, H.S., Choi, J.W. and Lee, H.G., 2000. Community structure of macrobenthic fauna under marine fish culture cages near Tong-yong, Southern Coast of Korea. *Fish. Aquatic. Sci.*, **33**: 1-8.
- Park, M.J., Lee, H.J., Lee, T.S., Son, K.T., Byun, H.S., Park, J.H. and Jang, D.S. 2000. Comparison of paralytic shellfish poison contents and components in the different bivalve species. *J. Fd. Hyg. Safety.*, **15**: 293-296.
- Powell, E., Klinck, J., Hofmann, E. and Bochenek, E. 2000. Food quality and feeding strategies in hatchery rearing of Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae: a modelling approach. *Journal of Shellfish Research*, **1**: 604.
- Powell, E.N., Bochenek, E.A., Klinck, J.M. and Hofmann, E.E. 2002. Influence of food quality and quantity on the growth and development of *Crassostrea gigas* larvae: a modelling approach. *Aquaculture*, **210**: 89-117.
- Rajagopal, S., Van der Velde, G., Van der Gaag, M. and Jenner, H. A. 2005. Factors influencing the upper temperature tolerances of three mussel species in a brackish water canal: size, season and laboratory protocols. *Biofouling*, **21**: 87-97.
- Riisgård, H.U., Larsen, P.S. and Pleissner, D., 2014. Allometric equations for maximum filtration rate in blue mussels *Mytilus edulis* and importance of condition index. *Helgol. Mar. Res.*, **68**: 193.
- Ro, Y.J. and Jung, K.Y., 2010. Impact of the dam water discharge on the circulation system in the Kangjin Bay, South Sea, Korea. *Ocean. Sci. J.*, **45**: 7-25.
- Sarkar, S.K., Cabral, H., Chatterjee, M., Cardoso, I., Bhattacharya, A.K.,

- Satpathy, K.K. and Alam, M.A., 2008. Biomonitoring of heavy metals using the bivalve molluscs in Sunderban mangrove wetland, northeast coast of Bay of Bengal (India): possible risks to human health. *Clean (Weinh.)*, **36**: 187–194.
- Shin, H.C., Lee, J.H., Jeong, H.J., Lee, J.S., Park, J.J. and Kim, B.H., 2009. The influence of water temperature and salinity on filtration rates of the hard clam, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia). *Korean J. Malacol.*, **25**: 161–171.
- Shin, Y.K., Im, J.H., Son, M.H. and Kim, E.O., 2012. Seasonal variation in biochemical composition and gonadal development of ark shell, *Scapharca broughtonii* (Bivalvia: Arcidae) from Gamag bay of Southern coast, Korea. *Korean J. Malacol.*, **28**: 73–79.
- Shin, Y.K., Kim, B.H., Choi, N.J., Jung, C.G. and Park, M.W., 2008. Influence of temperature, salinity and hypoxia on survival and metabolic rate in the ark shell, *Scapharca broughtonii*. *Korean J. Malacol.*, **24**: 59–66.
- Shon, M.B., Kim, Y.S. and Kim, C.R., 2009. Paralytic shellfish poisoning of Mediterranean mussels from Jinhae Bay in Korea. *Fish. Aquatic. Sci.*, **42**: 366–372.
- Suzuki, K., Yurimoto, T. and Koshishi, Y., 2011. Valve movement of the pen shell *Atrina lischkeana* in relation to burrowing and creep-out behavior, *Fisheries Engineering*, **48**: 19–24.
- Tang, Y.Z. and Gobler, C.J. 2009. *Cochlodinium polykrikoides* blooms and clonal isolates from the northwest Atlantic coast cause rapid mortality in larvae of multiple bivalve species. *Marine Biology*, **156**: 2601–2611.
- Taylor, F.J.R., Fukuyo, Y., Larsen, J. and Hallegraeff, G.M. 2003. Taxonomy of harmful dinoflagellates. In Hallegraeff, G.M.; Anderson,

- D.M.; Cembella, A.D. Manual on Harmful Marine Microalgae. pp. 389-432.
- Toyofuku, H., 2006. Joint FAO/WHO/IOC activities to provide scientific advice on marine biotoxins. *Mar. Pollut. Bull.*, **52**: 1735-1745.
- Tran, D., Boudou, A. and Massabuau, J.C., 2000. Mechanism for maintaining oxygen consumption under varying oxygenation levels in the freshwater clam *Corbicula fluminea*. *Can. J. Zool.*, **78**: 2027-2036.
- Tran, D., Haberkorn, H., Soudant, P., Ciret, P. and Massabuau, J.C., 2010. Behavioral responses of *Crassostrea gigas* exposed to the harmful algae *Alexandrium minutum*. *Aquaculture*, **298**: 338-345.
- Tran, D., Nadau, A., Durrieu, G., Ciret, P., Parisot, JP., Massabuau, JC. 2011. Field chronobiology of a Molluscan bivalve: how the moon and sun cycles interact to drive oyster activity rhythms. *Chronobiol. Int.*, **28**: 307-317.
- Wahl, M., Jormalainen, V., Eriksson, B.K., Coyer, J.A., Molis, M., Schubert, H., Dethier, M., Karez, R., Kruse, I., Lenz, M. and Pearson, G., 2011. Stress ecology in *Fucus*: abiotic, biotic and genetic interactions. In *Advances in marine biology*. **59**: 37-105. Academic Press.
- Wu RSS., 2002. Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses. *Mar. Pollut. Bull.* **45**: 35 - 45
- Yan, T., Zhou, M., Fu, M., Yu, R., Wang, Y. and Li, J. 2003. Effects of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* on early development of the scallop *Argopecten irradians concentricus*. *Aquaculture*, **217**: 167-178.
- Yanagi T., 2004. Hypoxia - the chemical and biological consequences of the mechanisms of its generation, maintenance, variability and disappearance. *Oceanography in Japan*. **13**: 451-460.