



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

해수 중 이산화탄소의 증가가
넙치(*Paralichthys olivaceus*)의
초기 성장에 미치는 영향



2012년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

해양생물학과

김 경 수



이 학 석 사 학 위 논 문

해수 중 이산화탄소의 증가가
넙치(*Paralichthys olivaceus*)의
초기 성장에 미치는 영향

지도교수 김 수 암

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2012년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

해양생물학과

김 경 수

김경수의 이학석사 학위논문을 인준함

2012년 2월 25일



주 심 이학박사 백혜자 (인)

위 원 이학박사 심정희 (인)

위 원 이학박사 김수암 (인)

목 차

List of Figures.....	iii
List of Tables.....	iv
Abstract	v
I. 서 론	1
1. 대기환경의 변화.....	2
2. 해양산성화에 대한 이론적 배경.....	3
3. 해양산성화와 해양생태계.....	5
4. 본 연구의 목적.....	8
II. 재료 및 방법	9
1. 산성화 실험 시스템.....	9
2. 실험 대상종.....	12
3. 실험 방법.....	13
가. 사육환경 조절 실험.....	13
나. 넙치 사육실험.....	13
다. 사육 환경의 검정.....	16

라. 실험 결과 분석.....	17
------------------	----

Ⅲ. 결 과..... 19

1. 체장 분석.....	19
2. 체중 분석.....	21
3. 성장률 분석.....	23
4. 어체 내 칼슘 및 미량금속 분석.....	25
5. 사육수 분석.....	28
가. 해수 중 미량금속 농도 분석.....	28
나. 해수 중 용존 이산화탄소 농도 분석.....	30

Ⅳ. 고 찰..... 31

1. 체장 분석.....	31
2. 체중 분석.....	33
3. 성장률 분석.....	34
4. 어체 내 칼슘 및 미량금속 분석.....	35
5. 사육수 분석.....	39

Ⅴ. 참고문헌..... 42

Ⅵ. Appendix..... 46

List of Figures

Fig. 1. Schematic illustration of the experimental system used to simulate future ocean acidification environments for rearing larval fishes.	10
Fig. 2. 95% CI of Standard length on <i>Paralichthys olivaceus</i> by different CO ₂ concentration.	20
Fig. 3. 95% CI of weight on <i>Paralichthys olivaceus</i> by different CO ₂ concentration.	22
Fig. 4. Growth rates on <i>Paralichthys olivaceus</i> by different CO ₂ concentration.	24
Fig.5. The changes in the concentrations of calcium and trace elements from whole body of olive flounder in different CO ₂ concentrations.	26, 27

List of Tables

Table 1. Rearing condition about experiments	15
Table 2. To measure calcium and trace elements concentration in seawater.	29



**Effect of elevated carbon dioxide in seawater on the early life
history of olive flounder, *Paralichthys olivaceus***

Kyung Su Kim



Due to the high concentration of CO₂ in atmosphere, ocean is becoming acidified. However, little is known about how fishes respond to the reduced pH condition. We reared newly hatched larvae of the olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in three different concentrations of CO₂ (400, 850 and 1500 ppm atmospheric CO₂) for up to 28-days to examine the acidification impacts on early life stages of fish. After 4 weeks, all fish larvae were sampled and body lengths were measured for growth comparison. Whole body of fish

larvae were vacuum freeze dried, and the concentration of calcium and some trace elements were measured using ICP-AES. Results indicated that body length and weight of flounder larvae were significantly increased with increasing carbon dioxide concentration ($P < 0.05$). Calcium and trace elements also revealed increasing tendency with increasing CO_2 in seawater, although there was no statistically significant difference.



I. 서론

최근에 지구환경 변화의 대표적인 사례로서 주목되고 있는 것이 바로 지구 온난화와 해양산성화이다. 이 두 현상은 18세기 산업혁명 이후부터 꾸준히 증가해온 인간의 화석연료 사용증가로 인한 대기 중 이산화탄소 농도의 증가에 의하여 발생한다. 더욱이 이렇게 배출된 이산화탄소를 광합성 작용으로 제거할 수 있는 자연생태계의 파괴로 인해 그 심각성은 점점 증가하고 있다. 이 두 가지 현상 중 지구온난화에 대해서는 비교적 오랫동안 연구되어 그 영향과 해결방안에 대해 많은 학자들의 연구와 대중의 관심을 모으고 있으나, 해양산성화는 그 심각성과 연구의 필요성이 최근에 들어서야 인식되고 있다 (IPCC, 2007). 본 단원에서는 산업혁명 이후의 대기 중 이산화탄소의 변화, 해양산성화에 대한 이론적 배경, 해양산성화와 해양생태계와의 관계, 그리고 마지막으로 본 연구의 목적에 대하여 설명한다.

1. 대기환경의 변화

대기를 구성하는 원소에는 여러가지가 있는데, 그 중 대부분은 질소(N_2 , 78%)와 산소(O_2 , 21%)가 차지하며 나머지 1%에 아르곤(Ar), 이산화탄소(CO_2) 네온(Ne_2) 등 약 15종의 미량원소가 있다(Wikipedia, 2011). 이러한 대기의 구성원소 중 지난 몇 세기동안 가장 큰 변화를 나타낸 것이 바로 이산화탄소이다. 이것은 인류의 화석연료 사용량 증가에 따른 것으로 이러한 사실은 미국 하와이 Mauna Loa에서 keeling이 관측한 이산화탄소 농도 변화를 나타낸 keeling curve에서 잘 나타나고 있다. 1958년에 315ppm이었던 이산화탄소 농도는 2006년 380ppm을 넘어 48년 만에 20%이상의 농도 증가를 나타내었다(IPCC, 2007).

이러한 이산화탄소 농도의 증가는 전 지구적인 기후변화를 불러왔는데, 대표적인 것이 지구온난화와 해양산성화이다. 지구온난화는 온실기체로 불리는 다양한 기체들(CO_2 , CH_4 , N_2O , HFCs, PFCs, SF_6)이 지구의 복사에너지 방출을 막아 대기과 지구 전체의 온도를 상승시키게 되는 현상으로 특히, 이산화탄소의 기여율이 가장 크다. 이러한 지구온난화는 대중들에게 많이 알려져 있는 현상이다. 하지만, 지구온난화 외에 대기 중 이산화탄소 증가에 따른 또 다른 문제가 발생하기 시작하였는데, 그것이 바로 해양산성화이다.

2. 해양산성화에 대한 이론적 배경

해양산성화란 대기중에 꾸준히 증가하고 있는 이산화탄소가 대기-해양 평형 (air-sea exchange)현상에 의해서 지속적으로 해양속으로 녹아 들어가는 현상이 그 원인으로 알려져 있다. 이렇게 녹아들어간 이산화탄소로 인해 해양의 이산화탄소 평형에 변화가 일어나 해양의 pH가 감소되어 해수 자체가 산성화 되는 현상이다(Gattuso et al., 2011).

이러한 해양산성화는 다음과 같은 반응식에 의해 일어난다.



이 반응식들은 이산화탄소가 물에 용해될 때 나타나는 화학반응을 나타내는데 (g), (l), (aq)는 화학종의 상을 표시하는 것으로서 각기 기체, 액체, 수용액 상태임을 나타낸다.

일반적인 해양의 상황에서는 이 식들의 좌변과 우변은 자유롭게 이동이 가능하다. 하지만 대기 중 이산화탄소의 증가는 (1)번 식의 좌변의 수치를 크게 증가시켰고 이러한 증가는 순차적으로 (2), (3), (4)번 식의 우변이 차례대로 증

가하는 현상을 만들게 되었다. 그리고 이 식들 중 (3), (4)번 식의 오른쪽 항의 수소이온 농도가 지속적으로 증가하는 방향으로 반응이 진행되기 때문에 해양의 pH가 낮아지게 되는 것이다(Dickson et al., 2007).



3. 해양산성화와 해양생태계

해양산성화는 일반적으로 해양의 pH를 감소시키는 것으로 알려져 있다. 이러한 현상으로 인해 해양의 생태계에 어떠한 영향이 미칠지에 대해서는 아직까지 상세하게 연구되어지지 않았다. 최근에 들어 다양한 해양 생물에 대한 해양산성화 연구가 진행되고 있지만 아직까지 한정적인 종에 대한 연구만 이루어지고 있는 실정이다.

이미 해양은 산업혁명 이전과 비교해 약 0.1정도의 pH가 감소한 상태이고 (Turley et al., 2006), 이러한 현상은 지속되어 21세기 말에 이르면, pH의 감소 속도가 더 증가하여 약 0.3가량 더 낮아질 것으로 예상되고 있다(Turley et al., 2006).

이러한 해양 산성화로 인해 일어나게 될 생태계의 변화에 대해서는 여러 연구가 진행되어오고 있다. 일반적으로 추정되는 해양산성화의 영향은 석회골격을 가지는 생물들의 골격 형성 및 유지에 나쁜 영향을 미쳐 이것이 생존능력에 차이를 나타낼 것이라는 점이다(Royal Society, 2005). 해양산성화가 해양생물에 미치는 영향에 대해 조사한 다양한 실험을 살펴보면, 우선 식물플랑크톤의 한 종인 *Chrysochromulina* sp.를 각각 이산화탄소 농도 400, 800, 1200ppm에서 사육한 결과 이산화탄소 농도가 증가함에 따라 세포수와 엽록소의 양이 증가하는 것을 확인하였다(Kawashima et al., 2010).

또한, 굴과 진주담치의 패각형성에 미치는 영향에 대한 실험에서는 굴과 진

주담치 둘 다 산성화된 해양 환경에서 사육하였을 때, 그들의 패각을 새로 생성하는 calcification능력의 저하가 관찰되었으며(Gazeau et al., 2010), 극지방에서 서식하는 익족류(pterapods)의 성장에 미치는 영향에 대한 실험에서는 남극해의 대표적인 동물플랑크톤 우점종인 익족류를 채집하여 이틀간 산성화된 환경에서 선상 사육한 결과 이들의 얇은 석회 골격의 구조가 약해져서 작은 충격에도 쉽게 부수지는 현상 등이 관찰되었다(Orr et al., 2005).

이 외에도 산성화된 환경에서 어류의 후각능력의 변화에 관한 실험에서는 산성화된 해양 환경에서 orange clownfish(*Amphiprion percula*)의 후각능력이 저해되어 포식자와 먹이의 후각적 자극을 구분하지 못하게 되어 생존율에 영향을 미치는 현상이 관찰되었고(Dixon et al., 2010), 산성화된 환경에서의 어류의 이석크기의 차이에 대한 실험에서는 산성화된 환경에서 사육된 어류 치어의 이석의 크기가 일반적인 환경에서 사육된 치어와 비교했을 때 이석의 크기가 더 커진 것을 관찰할 수 있었다(Checkley et al., 2009). 그리고 orange clownfish(*Amphiprion percula*)의 수정란을 부화 후 11일간 산성화된 환경과 일반적인 환경에서 사육한 후 살아남은 개체의 체장과 체중을 측정한 실험에서는 체장의 경우 산성화된 환경에서 사육된 치어가 일반적인 환경에서 사육된 치어보다 15~18%더 증가하였고, 무게는 47~52%더 증가한 것으로 나타났다(Munday et al., 2009).

이처럼, 생물종에 따라서 해양산성화의 영향이 다르게 나타나는 것을 관찰할 수 있는데, 특히, 외골격을 가지는 생물종의 경우 이들의 외골격을 유지하

는 것에 어려움을 겪게 된다는 것을 확인할 수 있다. 하지만, 해산 경골어류의 경우 치어사육 결과 이석이 커지거나, 체장, 체중이 더 증가하는 것으로 나타났다.



4. 본 연구의 목적

지금까지 연구된 해양산성화의 영향에 대한 해양생물의 반응에 대한 연구는 해양 무척추동물에 관한 것이 대부분이다. 몇몇 어류에 대한 연구들이 있기는 하나 그 수가 많지 않고, 실험 등의 용의성을 생각하다보니 사육실험이 가능한 종에 국한된 경우가 많은 실정이다. 또한, 본 연구는 어류의 초기 생활사 시기에 미치는 해양산성화의 영향에 대한 실험을 수행하였다. 이것은, 해양산성화라고 하는 현상은 해양 환경의 변화를 의미하는데, 이러한 해양 환경의 변화에 가장 크게 영향을 받는 시기가 바로 어류의 초기 생활사 시기이기 때문이다.

해양산성화가 어류의 초기생활사에 어떤 영향을 미치는지를 파악하여, 향후 어류자원의 가입 및 수산자원의 변동에 해양 환경 변화가 어떠한 영향을 미치는지 파악하는 것에 본 연구의 목적이 있다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 산성화 실험 시스템

인위적인 고 이산화탄소 환경을 만들기 위해 사육 및 혼합 가스 조절 실험 장치를 고안하였다(Fig 1.).

그림에서 보면 다양한 기계 장치들이 사용된 것을 확인할 수 있다. Air filter 는 대기 중의 이산화탄소를 제거하기 위해 설치한 것으로 속에 이산화탄소를 흡수하는 성질이 있는 soda lime으로 가득 차 있다. Mass flow controller는 기체를 일정한 속도로 흘려보내는 장치로서 본 실험에서는 순수한 이산화탄소 기체의 유량을 조절하기 위하여 사용하였다. Mixing chamber는 이산화탄소를 제거한 공기와 mass flow controller를 이용하여 흘려보내는 기체를 잘 혼합하여 균일한 농도를 가지게 만드는 장치이다. Vacuum pump는 mixing chamber 내의 혼합 공기를 수조로 공급하는 장치로 사용되었다. Reservoir는 사육 수조에 지속적으로 공급되는 해수를 저장하는 큰 수조로서 저장된 해수의 이산화탄소 농도를 일정하게 유지하기 위해 설계되었다. 그리고 aquaria는 사육 실험이 실제로 이루어진 수조로서, 안에 어류의 수정란을 넣어 부화시키고 사육 하는데 이용되었다. 또한, aquaria는 각 실험구별로 2개씩 반복 대조구를 설정하여 사육 실험을 실시하였다.

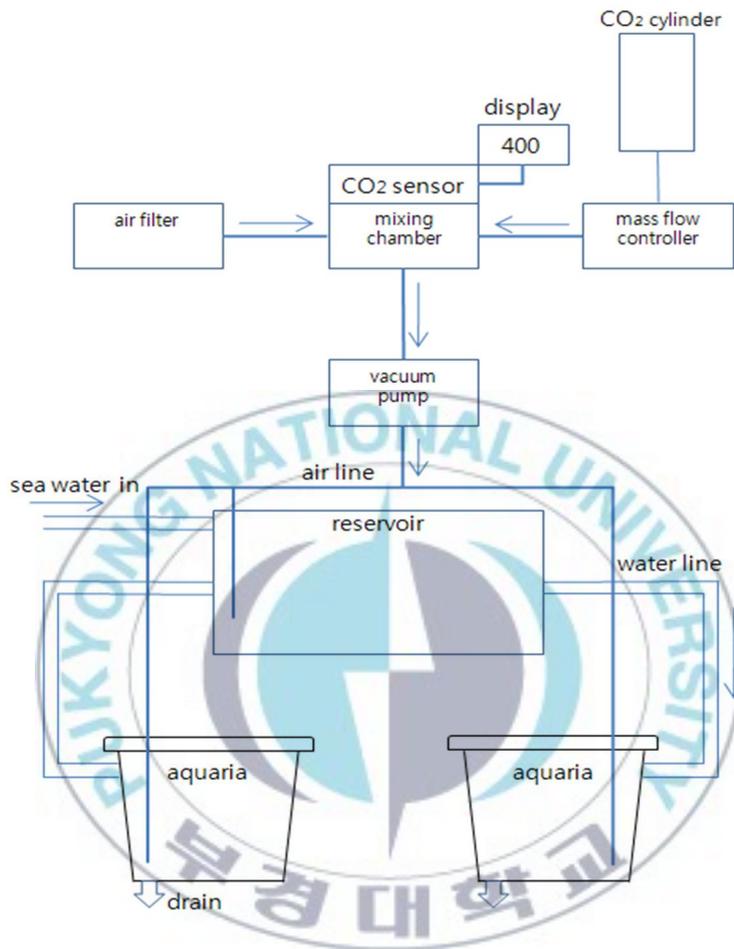


Fig. 1. Schematic illustration of the experimental system used to simulate future ocean acidification environments for rearing larval fishes.

원하는 이산화탄소 농도를 임의로 조성하기 위해 soda lime을 이용하여 대기 중 이산화탄소를 제거한 공기를 mixing chamber에 분당 5.5L씩 주입하였다. 그리고 고순도 이산화탄소를(99% CO₂) 원하는 농도(400, 850, 1550ppm Atmospheric concentration of CO₂)에 맞게끔 계산식을 이용하여 계산한 후, 계산된 수치에 따라 mass flow controller를 이용하여 mixing chamber에 주입하였다. 이렇게 mixing chamber에서 만들어진 3가지 이산화탄소 농도를 가진 공기는 해수로 채워진 reservoir 와 aquaria에 각각 bubbling 하여 사육해수의 이산화탄소 농도가 조절되도록 하였다. 그리고 사육수의 이산화탄소 농도의 변화를 최소화하기 위해 어류의 배설물과 먹이 찌꺼기에 의해 오염된 해수를 지속적으로 배출함과 동시에 reservoir에 있는 해수가 공급되도록 장치하였다. Aquaria와 reservoir에는 각각 뚜껑을 설치하여 외부 대기와의 기체교환이 최소화될 수 있도록 하였으며, aquaria의 사면을 검은색 종이를 둘러싸서 빛에 의해 부화자어에 나쁜 영향이 가지 않도록 광량을 조절하였다.

2. 실험 대상종

본 연구에서 해양산성화의 영향을 살펴보기 위해 넙치를 이용하여 사육실험을 수행하였다. 넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 현재 우리나라에서 양식되고 있는 어종 중 조피볼락과 참돔에 이어 3번째로 많은 양이 양식되고 있으며 (KOSIS, 2010), 특히 우리나라에서는 횡감으로 그 소비가 많아 활발한 양식이 이루어지고 있다. 넙치의 생태적 특징은 해저면에 서식하며, 주위 환경에 맞춰 보호색을 띤다. 자연산란은 보통 5~6월에 이루어지며 양식기술의 발달로 인공 종묘 생산이 연중 이루어지고 있다. 알의 종류는 분리 부성난이며 난경은 0.94~0.98mm 전후이고 유구는 1개이다. 수온에 따라 부화에 소요되는 시간에는 차이가 있으며, 18~20°C에서 약48시간이 소요된다. 부화된 어린 자어는 10일 전후로 머리 뒤쪽의 등 부분에 돌기가 생기기 시작하고, 20일경에는 6개의 긴 가시로 자라는데, 그 중 4~5째 번 것이 특히 길다. 사육수온이 18°C 전후일 때, 부화 후 약 30일 정도에서 체장 11mm 정도로 자라게 되며, 좌우 상칭형이 변형되면서 오른쪽 눈이 머리의 등 뒷선을 따라 왼쪽으로 옮겨 가는 변태(metamorphosis)가 진행된다. 부화 후 약 35일 정도가 되면 체장 약 14mm로 자라고 변태가 완료된다.(Han and Kim, 1997)

넙치는 완전양식이 가능한 종으로 그 양식기술이 확립되어 다른 양식 어종에 비해 비교적 쉽게 접근할 수 있는 장점이 있으며, 연중 수정란의 생산이 가능하여 실험이 용의하므로 본 실험의 대상종으로 선택하게 되었다.

3. 실험 방법

가. 사육환경 조절 실험

본 실험에 앞서, 해양산성화 사육 실험을 위해 실험장치를 설치하여 장치 유의성 실험을 실시하였다. 테스트실험에서는 실험을 위해 설치된 장치에 해수를 채우고 수정란은 수용하지 않고 이산화탄소 공급을 실시하였다. 각각의 수조에 다른 농도의 이산화탄소가 혼합된 공기를 에어스톤을 이용하여 주입하면서 실험환경의 조절이 원활하게 이루어지는지 확인하기 위하여 사육수의 pH를 pH meter(Orion 5star, Thermo)를 이용하여 측정하였다. 7일간 하루 3번씩 pH를 측정한 결과, 400ppm, 850ppm, 1550ppm의 이산화탄소 농도에서 나타난 해수의 pH는 각각 8.05 ± 0.05 , 7.84 ± 0.12 , 7.73 ± 0.15 의 범위 내에서 일정하게 유지되는 것을 확인할 수 있었다.

나. 넙치 사육 실험

본 연구에서는 넙치(*Paralichthys olivaceus*)를 대상으로 산성화 실험을 수행하였다. 실험은 2011년 5~7월에 걸쳐 총 3회 반복 수행되었다. 총 4주간의 사육기간 동안 이산화탄소 농도가 다른 환경(400, 850, 1550ppm)에서 넙치의 수정란 단계에서 치어기까지 사육하였다(Table 1).

넙치의 수정란은 총 6개의 30L수조에 수조당 1200개씩 수용하였다. 사육수의 온도는 21°C로 유지되었으며, 사육수조에 수용 후 12시간 경과 후부터 부화가 시작되어 만 24시간 후에는 모든 수정란이 부화되었다. 부화 후 2일부터 농축 chlorella(Power-Chlo, Chloland. Co., Ltd.)를 사육수의 색이 약한 연두빛으로 보일 정도로 풀어주었다. 이는 빛의 투과율 조절과 동시에 부화자어의 안정을 위해서이다. 그리고 그와 동시에 rotifer(*Brachionus rotunditormis*)를 먹이로 공급하였다. rotifer의 공급은 넙치가 성장함에 따라 그 양을 증가시켰으며 부화 후 18일 경과 후부터는 brine shrimp와 함께 혼합 급이하다가 부화 20일 경과 후부터는 brine shrimp만을 급이하였고 25일 경과 후부터는 자치어용 초미립자 배합사료를 혼합 급이하였다. 또한 광주기는 사육기간 동안 14L:10D로 조절되었다. 본 실험이 진행되는 동안 조절된 외부 환경요인에 대한 정보와 기타 중요한 사항에 대해서는 Table 1. 에 기록하였다.

Table 1. Information on rearing experiments, May-July 2011.

	Period	CO ₂ concentration (ppm)	pH	Temperature (°C)	Salinity	number of eggs	number of live larvae after 4weeks
1st. exp.	May 1-May 28	400±25	8.05±0.05	21±0.5	32.5±0.1	1200±50	119
		850±30	7.84±0.12	21±0.5	32.4±0.1	1200±50	65
		1550±30	7.73±0.15	21±0.5	32.2±0.1	1200±50	34
2nd. exp.	June 1-June 28	400±25	8.05±0.05	21±0.5	32.5±0.1	1200±50	21
		850±30	7.84±0.12	21±0.5	32.4±0.1	1200±50	27
		1550±30	7.73±0.15	21±0.5	32.2±0.1	1200±50	38
3rd. exp.	July 4-July 31	400±25	8.05±0.05	21±0.5	32.5±0.1	1200±50	78
		850±30	7.84±0.12	21±0.5	32.4±0.1	1200±50	7
		1550±30	7.73±0.15	21±0.5	32.2±0.1	1200±50	12

다. 사육 환경의 검정

또한, 사육수의 이산화탄소 농도가 최초 설정 농도(400, 850, 1550 ppm)와 동일하게 얼마나 잘 유지되었는가 확인하기 위해 사육수 중 용존 이산화탄소 ($p\text{CO}_2$)의 분석을 수행하였다.

용존 이산화탄소의 분석은 다음과 같은 순서로 실행하였다. 우선, 사육수를 500ml 채수하여 광구병에 넣고 해수 중에 있을지도 모르는 생물의 활동에 의해 시료의 탄소 분포가 달라지지 않도록 하기 위해서 0.05ml의 염화수은 (HgCl_2)을 첨가한다. 염화수은 첨가 후 마개를 잘 닫아 외부와의 접촉을 차단한다. 이렇게 채수된 사육수는 실험실로 가져와 개방형 용기 적정법으로 총 알칼리도를 측정하였다(Dickson et al., 2007).

알칼리도를 측정한 후, 측정에 사용된 해수를 채수할 때 함께 측정한 pH, 수온, 염분의 측정값을 이용하여 용존 이산화탄소($p\text{CO}_2$)를 계산하였다. 이 계산에는 Pierrot(1998)이 개발한 CO2Sys EXCEL Macro프로그램이 사용되었다.

라. 실험 결과 분석

28일간의 사육실험 종료 후, 생존개체 전체를 조사하여 체장을 분석하였다. 체장분석은 채집된 모든 개체를 얼음으로 마취한 후 입체해부현미경 (Discovery V8, ZEISS)을 이용하여 관찰 후, 현미경에 연결된 카메라(ICC1, AxioCam)로 치어의 전체 모습을 촬영하였다. 이렇게 촬영된 치어사진은 이미지 분석 프로그램(Axiovision4.7, AxioCam)을 이용하여 치어 체장의 0.01mm단위까지 측정되었다.

체중분석에는 분석의 용의성을 위해 PCR micro tube가 사용되었다. 우선, 체중분석에 사용될 모든 tube에 번호를 매긴 후, 각 tube의 무게를 측정하여 야장에 기록하고 각 tube에 한마리씩 넙치 치어를 수용하였다. 이때, 치어에 묻어있는 물기를 최대한 제거하여 체중 측정의 오차가 최소화될 수 있도록 했다. 치어를 tube에 넣은 후 전자저울(Mettler Toledo, AB204-S)을 이용하여 0.0001g까지 무게를 측정하였다. 이렇게 측정된 무게는 치어를 넣기 전에 측정된 tube의 무게와의 차이를 구하는데 사용하여 순수한 치어의 무게를 구하였다.

6월에 실시된 사육 실험에서는, 성장률을 구하였다. 총 28일간의 사육기간 동안 부화일로부터 8, 10, 12, 14, 18, 22, 25, 28일 경과 후 각 실험구별로 유생을 10마리씩 무작위 추출하여 체장을 측정하였다. 체장 측정은 입체 해부 현미경(Discovery V8, ZEISS)을 이용하여 관찰 후 현미경에 연결된 카메라(ICC1,

AxioCam)로 사진을 촬영하였다. 촬영된 사진은 이미지 분석 프로그램 (Axiovision4.7, AxioCam)을 이용하여 체장을 0.01mm단위까지 측정하였다. 이렇게 측정된 자료를 바탕으로 그래프를 작성한 후 직선의 기울기를 비교하여 그 차이를 확인하였다.

체장과 체중의 측정에 사용된 후 남은 샘플은 칼슘 및 미량금속 분석에 사용되었다. 칼슘 및 미량금속의 분석의 전처리를 위해 우선 넙치 치어를 담수로 가볍게 세척한 후 PCR용 0.2ml micro tube에 넣고 진공동결건조를 하였다. 동결건조기에 넣고 24시간이 경과한 후에 tube에 남아있는 건조된 치어를 꺼내어 각 실험구별로 한데 모아서 건조량을 0.0001g까지 측정하였다. 무게를 측정한 후 각 실험구별로 건조된 시료의 화학적 전처리를 열판 분해 방법 (Hot plate Digestion)으로 수행하였다. 전처리 후 용액상태로 만들어진 시료를 이용하여 ICP-AES(inductively coupled plasma atomic emission spectrometry) 분석을 한 후 그 결과를 이용하여 각각의 실험구별 미량금속의 체내 농도를 비교하였다.

Ⅲ. 결과

1. 체장분석

체장분석 결과, 5월 실험에서는 대조구 $14.412 \pm 0.594\text{mm}$, 저농도 $14.82 \pm 0.864\text{mm}$, 고농도 $15.267 \pm 1.324\text{mm}$ 로 나타났고 6월 실험에서는 대조구 $12.027 \pm 1.084\text{mm}$, 저농도 $12.455 \pm 0.762\text{mm}$, 고농도 $13.367 \pm 0.87\text{mm}$ 로 나타났으며, 7월 실험에서는 대조구 $12.513 \pm 0.564\text{mm}$, 저농도 $13.038 \pm 0.832\text{mm}$, 고농도 $13.585 \pm 0.794\text{mm}$ 로 나타났다.

총 3번의 실험 중 5월에 진행된 사육실험을 제외하고는 나머지 두 실험에서 성장에 있어 유의한 차이를 나타내는 것을 확인할 수 있었다($P < 0.05$). 5월에 진행된 사육실험의 결과는 통계학적으로 유의한 차이는 나타나지 않았으나, 사육수의 이산화탄소 농도가 증가함에 따라 체장이 증가하는 경향이 나타나는 것을 확인할 수 있었다(Fig 2).

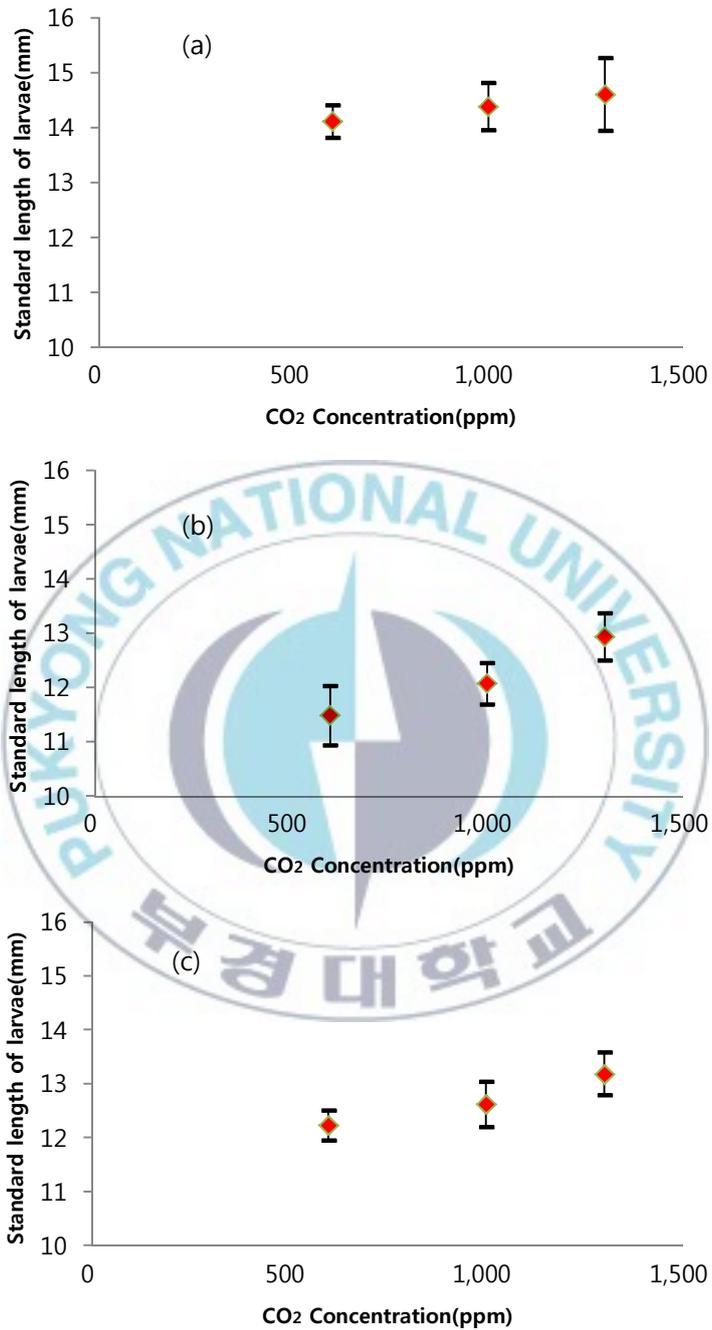
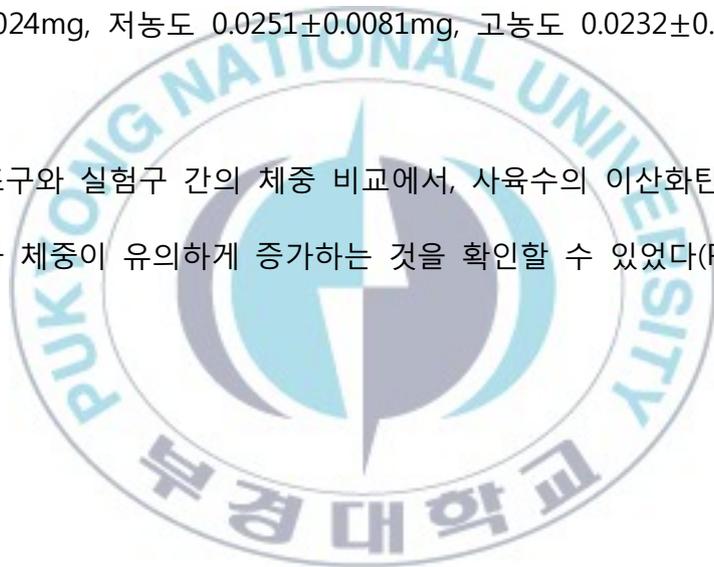


Fig. 2. 95% CI of Standard length on *Paralichthys olivaceus* by different CO₂ concentration. (a)May, (b)June, (c)July

2. 체중분석

체중분석 결과, 5월 실험에서는 대조구 $0.0346 \pm 0.0035\text{mg}$, 저농도 $0.0383 \pm 0.0051\text{mg}$, 고농도 $0.0393 \pm 0.0077\text{mg}$ 으로 나타났고 6월 실험에서는 대조구 $0.0142 \pm 0.0019\text{mg}$, 저농도 $0.0181 \pm 0.0024\text{mg}$, 고농도 $0.0178 \pm 0.0023\text{mg}$ 으로 나타났으며, 7월 실험에서는 대조구 $0.0179 \pm 0.0024\text{mg}$, 저농도 $0.0251 \pm 0.0081\text{mg}$, 고농도 $0.0232 \pm 0.0045\text{mg}$ 으로 나타났다.

위의 대조구와 실험구 간의 체중 비교에서, 사육수의 이산화탄소 농도가 증가함에 따라 체중이 유의하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다($P < 0.05$).



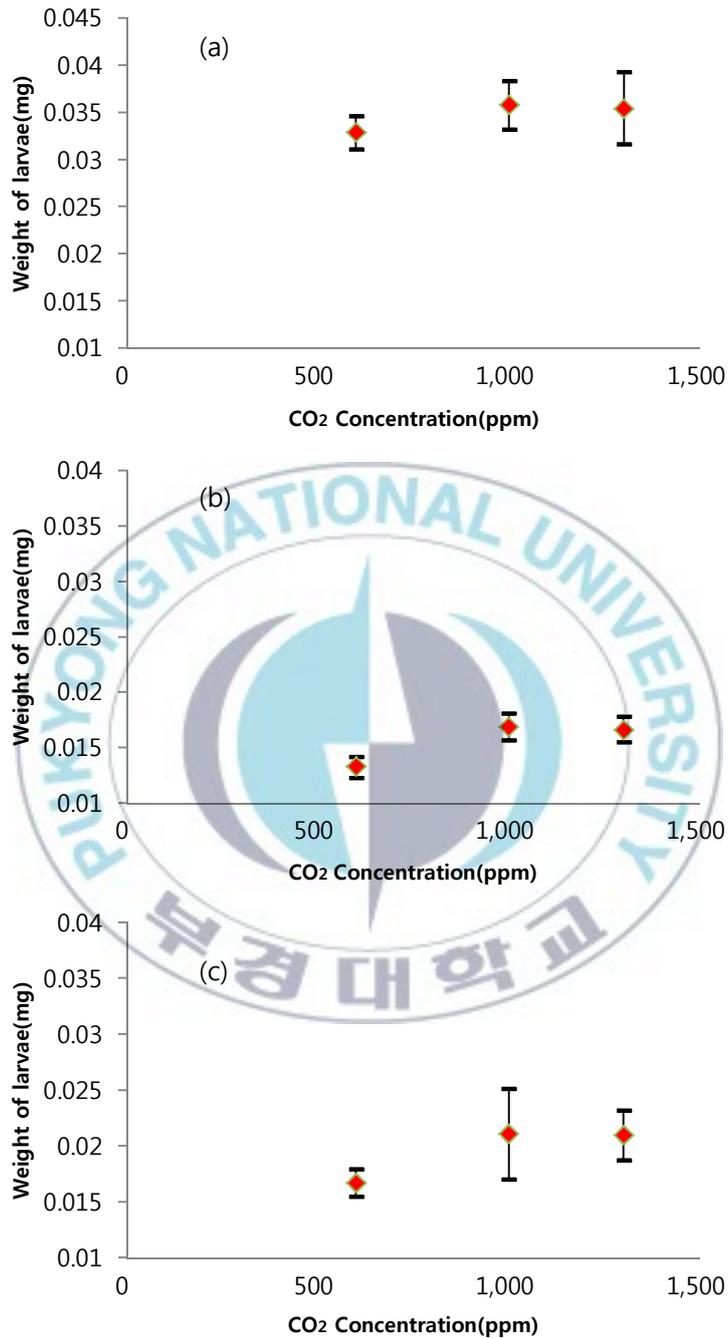


Fig. 3. 95% CI of weight on *Paralichthys olivaceus* by different CO₂ concentration.

(a)May, (b)June, (c)July

3. 성장률 분석

성장률 분석 결과, 각 이산화탄소 농도별로 성장에 있어 통계학적으로 유의한 차이가 나타나는 것을 확인하였다(ANCOVA, $F=2.10$, $df=1,14$, $P<0.05$). 400ppm에서 사육된 치어의 성장률은 $y = 0.3603x + 0.7453$ 으로 표현되었으며, 850ppm에서 사육된 치어의 성장률은 $y = 0.3613x + 0.4259$, 1550ppm에서 사육된 치어의 성장률은 $y = 0.3908x + 0.3182$ 로 표현되었다. 이러한 직선의 기울기의 차이는 곧 각 농도구 간의 성장률의 차이를 의미한다고 할 수 있다.



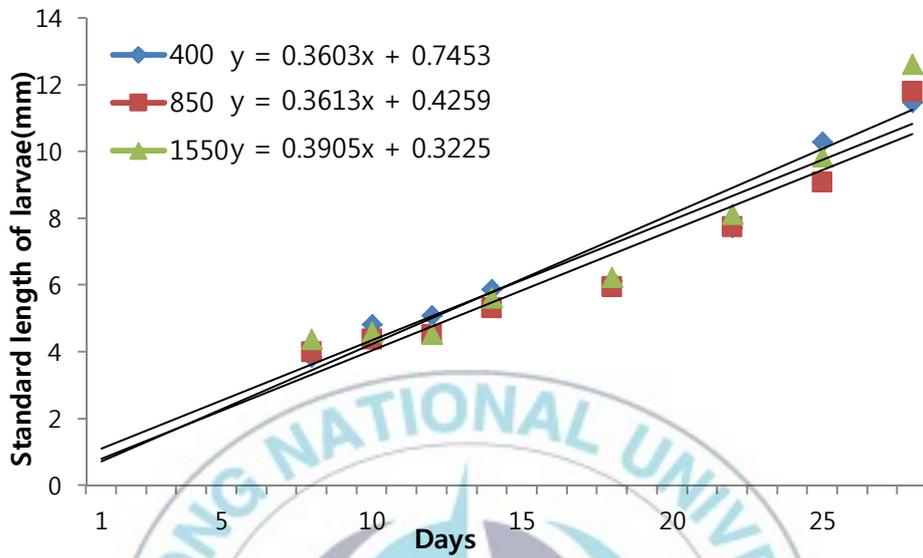
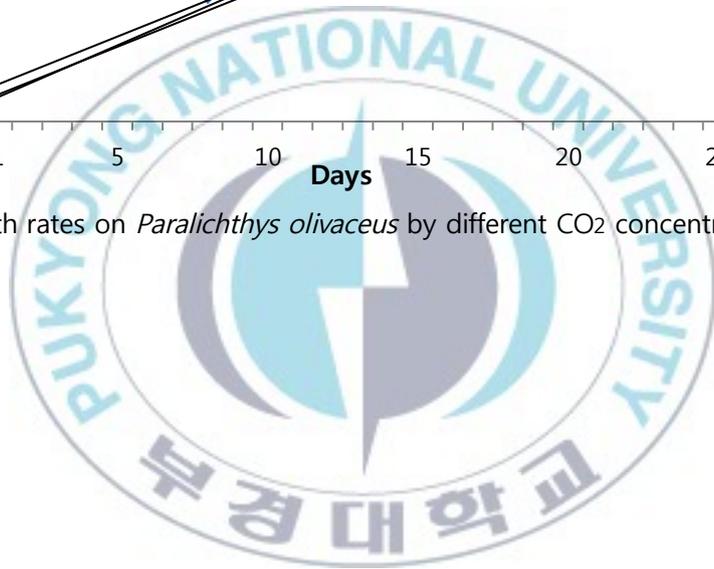


Fig. 4. Growth rates on *Paralichthys olivaceus* by different CO₂ concentration.



4. 어체 내 칼슘 및 미량금속 분석

총 30종의 미량금속이 분석되었으나 이 중 17종의 금속(As, Sn, Tl, Se, Mo, Sb, Pb, Ni, Co, Cd, Cr, V, Al, Be, Ag, Ti, Li)은 검출되지 않았다. 이들 미검출된 17종의 금속 외에 13종의 금속(Na, K, Ca, Mg, P, B, Zn, Si, Fe, Cu, Ba, Mn, Sr,)은 각 금속별로 다양한 양이 검출되었다. 이들 미량금속의 검출량에 대한 정확한 결과는 appendix 1.에 제시하였다.

검출된 13종의 금속 중, 일정한 경향이 나타나는 금속은 5종(Ca, Fe, Cu, Zn, Sr)이었다. 이들 미량금속은 사육수의 이산화탄소 농도가 증가할수록 증가하는 경향을 나타내었다. 하지만, 통계학적으로 유의한 차이는 Fe외에는 나타나지 않는 것을 확인할 수 있었다($P < 0.05$).

5~7월 3번에 걸친 실험에서, 각 실험 1회에 1번의 ICP분석이 실시되었는데, 3번의 실험에 사용된 자연해수의 미량금속 농도의 절대값의 차이로 인해 3번의 실험에서 나타난 어체 내 미량금속의 농도는 크게 차이가 나타났다.

이런 현상으로 실험 결과를 해석하는 것에 어려움이 있어 Fig 5.에는 각각의 ICP분석에서 나온 절대값 중 대조구의 수치를 기준으로 잡아 1로 표시하고 두 실험구의 미량금속 농도를 비율로 나타내었다.

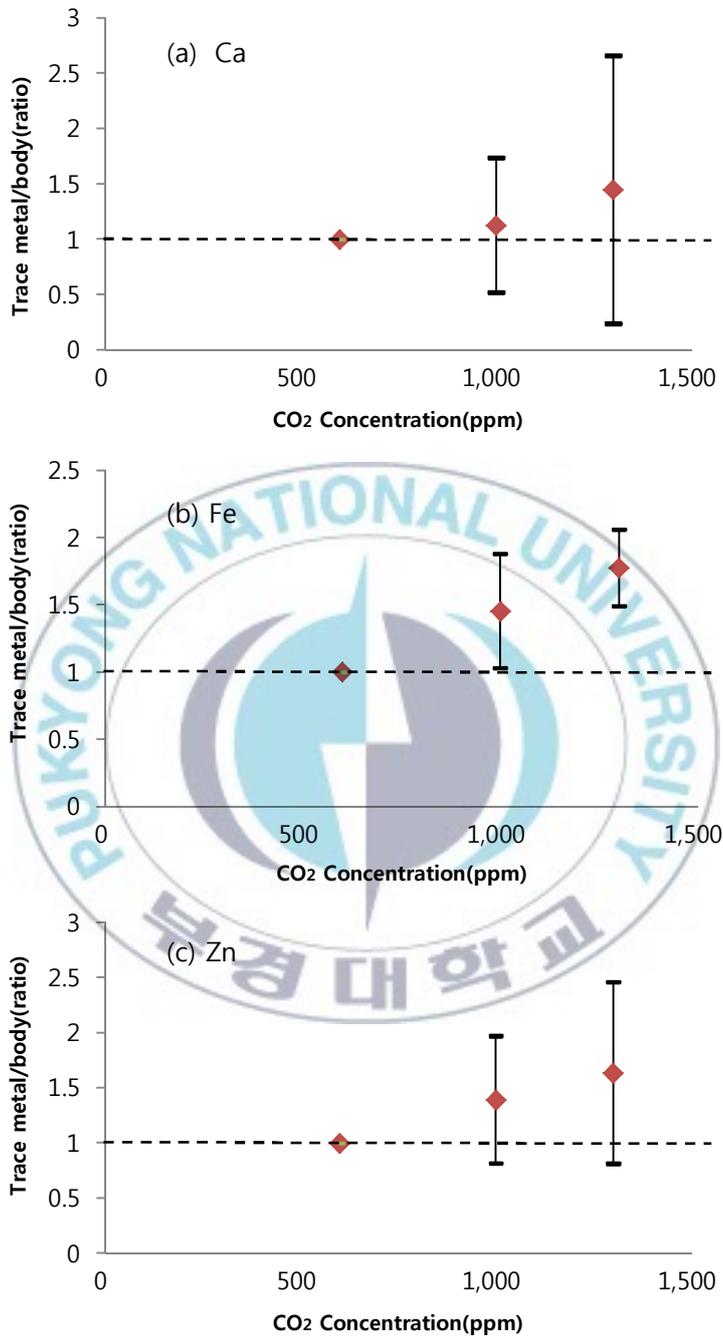


Fig.5. The change of calcium and trace metals concentration in body of olive flounder in different carbon dioxide concentrations. (a)Ca, (b)Fe, (c)Zn

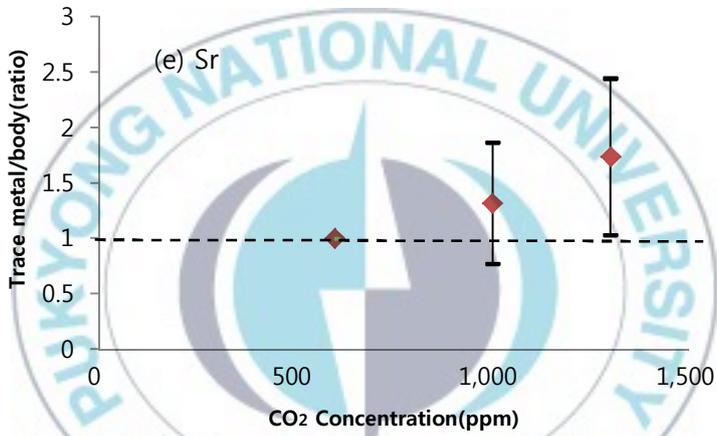
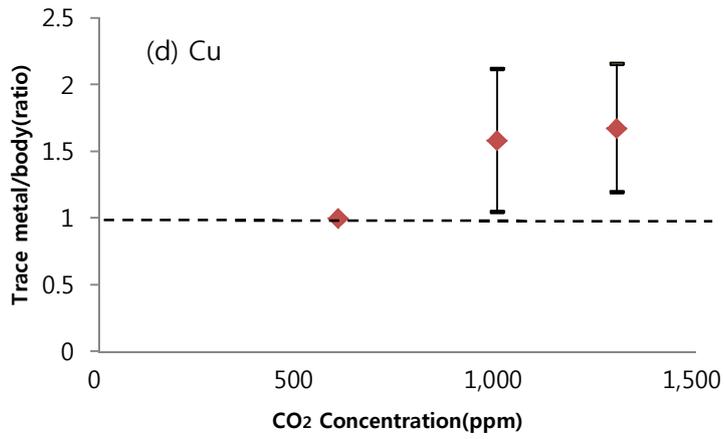


Fig.5. (continued) The change of calcium and trace metals concentration in body of olive flounder in different carbon dioxide concentration. (d)Cu, (e)Sr

5. 사육수 분석

가. 해수 중 미량금속 농도 분석결과

해수 중 미량금속의 농도를 분석한 결과, 각 농도별 사육수의 미량금속 농도의 유의한 차이는 나타나지 않았다. 그리고, 치어의 체내 미량금속 분석에서 나타난 특정 원소의 검출 또한 사육수에는 나타나지 않았다. 해수분석을 통한 미량금속에 대한 정보는 Table 2. 에 상세하게 기록하였다.



Table 2. To measure Calcium and trace elements concentration in seawater(N.D : not detected).

(unit : mg/kg)

Sample	Na	K	Ca	Mg	P	B	Zn	Si	Fe	Cu	Ba	Mn	Sr	As, Sn, Ti, Se, Mo, Sb, Pb, Ni, Co, Cd, Cr, V, Al, Be, Ag, Ti, Li (17 ea)
400ppm	10398.4	670.40	355.81	1090.53	N.D	3.81	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	6.22	N.D
850ppm	9960.25	702.64	362.82	1116.70	N.D	3.77	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	6.16	N.D
1550ppm	9895.61	649.42	365.43	1096.28	N.D	3.97	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	6.16	N.D

나. 해수 중 용존 이산화탄소 분석 결과

앞에서 측정한 용존 이산화탄소($p\text{CO}_2$)측정에 필요한 여러가지 인자들(수온, 염도, pH, TA)를 이용하여 사육수의 용존 이산화탄소 농도를 계산한 결과, 각 실험구별 사육수의 용존 이산화탄소($p\text{CO}_2$) 농도는 400ppm대조구는 $573.95 \pm 0.35 \mu\text{atm}$, 850ppm실험구는 $988 \pm 0.1 \mu\text{atm}$, 1550ppm실험구는 $1297.2 \pm 0.5 \mu\text{atm}$ 으로 나타났다.



IV. 고찰

1. 체장 분석

용존 이산화탄소 농도 증가가 넙치의 초기 성장에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위해 4주간 다양한 이산화탄소 농도에서 사육 실험을 수행하였다.

분석 결과 나타난 이산화탄소 농도가 증가함에 따라 넙치 치어의 체장이 증가한 현상은 Checkley et al.(2009)의 논문에서 나타난 고농도의 이산화탄소 환경에서 어류 치어의 이석의 성장이 촉진되어 이석의 크기가 증가하는 경향을 나타낸 것과 유사한 결과라고 생각되어지며, 또한, Munday et al.(2009)의 논문에서 나타난 산성화된 환경에서 자란 clownfish의 치어가 일반적인 환경에서 자란 치어보다 체장이 더 길었던 것과 유사한 것으로 보여진다. 반면에, 본 연구에서 예비실험으로 수행된 감성돔 치어의 사육실험에서는 사육수의 이산화탄소 농도가 증가함에 따라 치어의 성장이 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 현상이 나타나는 것에 대한 정확한 생리학적 기작에 대해서는 아직 확실히 알려지지 않았으며, 향후, 이 분야에 대한 연구가 필요하다.

지금까지 수행된 해양산성화 연구의 결과물들은 대부분 무척추동물에 한정되어 있다(Doney et al., 2009). 또한, 이러한 무척추동물에 대한 해양산성화의

영향에 대해 수행된 실험의 결과들은 대부분 해양산성화로 인해 이들의 성장이 저해되는 것이 대부분이었다(Doney et al., 2009). 이러한 결과로 비추어 볼 때, 해양산성화에 적응하는 반응이 크게는 척추동물과 무척추동물간에, 작게는 종간에 차이가 있을 것으로 예상할 수 있다.



2. 체중 분석

체중 분석 결과 대조구에 비해 고농도 실험구에서 체중이 유의하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 앞의 체장 분석에서 예로 든 Munday et al.(2009)의 논문에서도 동일한 현상을 확인할 수 있었으며 이는 체장의 증가와 함께 자연스러운 현상으로 보여진다. 앞에서 논의한 이산화탄소 농도가 증가함에 따라 넙치 치어의 체장이 증가한 것과 같은 맥락에서 생각해볼 때, 이산화탄소 농도가 높아짐에 따라 어류 치어의 경우 성장이 촉진되는 결과를 가져오는 것으로 예상할 수 있다.

하지만, Hwang et al.(2009)의 결과를 보면 Munday et al.(2009)의 결과와 본 연구의 넙치의 결과와는 상반되는 것을 확인할 수 있다. 이는 같은 해산 경골 어류라 하더라도 그 종에 따라 다른 적응 기작을 나타낸다는 것을 암시한다.

3. 성장률 분석

성장률 분석 결과 대조구와 고농도 실험구 간에 유의한 성장률의 차이가 있는 것으로 나타났다(ANCOVA: $F=2.10$, $df=1,14$, $P<0.05$). 이는 앞선 결과에서 나타난 사육수의 이산화탄소 농도가 증가함에 따라 체장과 체중의 증가가 관찰된 것과 동일한 맥락에서 해석 할 수 있을 것으로 생각된다. 지금까지 진행된 해양 산성화 실험에서 어류의 성장률에 대한 결과를 나타내고 있는 것은 찾아볼 수 없다. 무척추 동물 중 전복에 대한 실험결과를 보면 이들의 성장이 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있는데(Kimura et al., 2011) 이러한 무척추 동물에 대한 영향과는 반대의 결과가 관찰됨으로서 위에서 말한 생물종에 따라서 해양산성화에 적응하는 기작이 다르게 나타날 것이라는 것을 짐작할 수 있다.

4. 미량금속 분석

어체 내 미량금속의 분석에 ICP기법이 처음 사용된 것은 자원학 분야에서였다. 이러한 미량금속의 분석은 동일한 어종이라 하더라도 그 계군에 따라 이석내의 미량금속 농도가 조금씩 차이가 나기 때문에 계군의 구분을 가능하게 한다(Edmonds et al., 1989). 또한 이석 내 금속의 농도는 환경수의 영향을 많이 받게 되는데, 특히 Mg/Ca의 구성비는 서식지의 수온에 따라 변한다는 것이 연구 결과 밝혀졌고, 이러한 것을 토대로 서식지의 환경변화를 이러한 미량금속의 분석을 통하여 어느 정도 추정할 수 있게 되었다(Mitsuguchi et al., 1996 : Sohn et al., 2005).

대부분의 미량금속 분석에는 어류의 이석만을 분리하여 사용하는데 이는 어류의 이석은 어류의 전 생활사에 걸쳐서 성장하며, 이렇게 형성된 어류의 이석 내 화학조성은 형성 후엔 변화하지 않는다는 특징을 가지기 때문이다(Campana and Neilson, 1985). 하지만, 본 실험에서는 4주간 사육된 넙치 치어의 이석의 크기가 작고, 중량이 작기 때문에, 이석만을 이용하여 화학적 분석을 수행할 수 있는 절대량에 미치지 못하여 부득이 어체 전체를 이용하여 미량금속 분석을 수행하였다.

본 실험에서는 총 30종의 미량금속을 대상으로 각 금속의 검출 농도를 측정하였다. 이 중 17종의 금속(As, Sn, Tl, Se, Mo, Sb, Pb, Ni, Co, Cd, Cr, V, Al, Be, Ag, Ti, Li)은 검출되지 않았다. 이들 미검출된 17종의 금속 외에 13종의 금속

(Na, K, Ca, Mg, P, B, Zn, Si, Fe, Cu, Ba, Mn, Sr,)은 각 금속별로 다양한 양이 검출되었다. 여기서 미검출된 17종의 금속은 해수중에 녹아있는 절대량이 적기 때문에 어체 내에서 농축되는 양 역시 검출될 정도로 많지 않은 것으로 생각된다.

그리고 미량금속 분석에서는 이산화탄소의 농도가 증가함에 따라 체내 미량금속의 양이 증가하는 경향이 나타났다. 통계학적으로 유의한 결과가 나타나진 않았으나 그 경향성은 분석 결과를 통해서 짐작할 수 있었다. 증가경향이 나타난 Ca, Fe, Cu, Zn, Sr의 5가지 금속 중 유일하게 농도간 유의한 차이를 나타낸 것이 Fe였다. 이러한 현상의 이유로는 체내 산소공급 체계와 연관이 있을 것으로 예상된다. 어류에 있어서 호흡은 산소와 이산화탄소간의 분압차에 의한 확산 현상에 의해 수행된다. 이는 대기 중 뿐만 아니라 수중에서도 산소의 농도가 이산화탄소의 농도에 비해 높기 때문에 확산에 의해 고농도에서 저농도로 즉, 산소의 경우에는 외부에서 생물체 내로, 이산화탄소의 경우에는 생물체 내에서 외부로 확산이 이루어지게 된다. 하지만, 대기 중 이산화탄소 농도의 증가는 곧 수중에 녹아들어가는 이산화탄소 양의 증가와도 연결되기 때문에 어류의 호흡활동에 있어서 이러한 분압차의 감소 문제는 생존과 직결된 문제일 것이다. 이러한 문제를 해결하기 위해서 어류의 적응기작의 하나로 나타나는 것이 바로 체내의 혈액량을 증가시키는 것이다. 한정된 산소 운반량을 증가시키기 위해 외부적 요인이 변하지 않는다면, 생물체 스스로 그러한 요구를 충족시키지 않으면 생존할 수 없다. 그래서, 어류는 체내 혈액량

을 증가시켜서 한번에 운반할 수 있는 산소의 양이 줄어든 것을 더 많은 운반 횟수로 상쇄시키고자 하여 이러한 현상이 나타난 것으로 추측된다. 이러한 혈액 중 헤모글로빈의 주성분은 바로 Fe이기 때문에 어체 내의 Fe의 농도가 증가한 것으로 생각된다. 그리고 충분한 산소를 호흡하기 위해 일반적인 환경보다 호흡횟수 또한 증가할 것으로 생각된다. 향후 해수 중 이산화탄소 증가에 따른 어류의 호흡 횟수의 변화에 대한 연구 또한 수행할 필요가 있을 것이다.

Ca는 어류를 포함한 대부분의 해양 생물에 있어서 골격을 구성하는 중요한 성분 중 하나이다. Ca는 어체 내에서 그 성분 중 98%가 뼈에 포함되어 있고, 조직내에 포함된 비율은 불과 2%에 불과하다(Mugjiya et al., 1977). 이러한 사실로 미루어볼 때, 분석 결과에서 나타난 Ca농도의 증가 경향은 어류의 골격 부위의 Ca농도 증가에 따른 것으로 생각할 수 있다.

Kimura et al, (2011)에 의하면 사육수의 이산화탄소 농도의 증가는 전복 치패의 패각의 성장을 저해하거나 부식시킨다는 결과를 나타내었고, 이는 곧 성장의 저해 및 생존율의 저하를 가져오게 된다고 보고하였다. 한편, Munday et al, (2009)에 의하면 이산화탄소 농도가 증가함에 따라 clownfish 치어의 성장이 더 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 산성화된 환경이 clownfish의 성장을 촉진한다는 것을 의미한다고 생각된다. 하지만, 본 논문에서 예비 실험으로 감성돔의 치어를 사육한 결과에 따르면 사육수의 이산화탄소 농도가 증가함에 따라 체장과 체중이 감소하는 것을 관찰하였다. 이는 종에 따라

서 해양산성화라고 하는 하나의 현상에 적응하는 양상이 다르게 나타날 수 있다는 것을 암시한다.

또한, 어류는 내골격을 가지고 전복과 같은 복족류는 외골격을 가지는데 이 두 종류의 생물군이 그들의 골격을 형성하고 성장시키는데 있어 서로 상이한 기작을 가지고 있을 것이라는 것을 이 결과에서 또한 예상할 수 있다(Cooper et al., 2010; Dillaman, R,M. 1981).



5. 사육수 분석

사육수 분석이 필요한 이유는 2가지가 있다. 하나는, 기존에 해수 속에 용존하는 미량금속의 농도와 치어의 체내에 농축된 미량금속의 차이를 관찰하기 위해서이고, 또 다른 하나는 사육수의 총알칼리도(Total Alkalinity)와 염분 및 수온을 이용하여 용존 이산화탄소 양을 계산해 낼 수 있는데 그 계산에 필요한 측정변수를 얻기 위함이다.

해수 중 미량금속의 농도를 분석한 결과, 각 농도별 사육수의 미량금속 농도의 유의한 차이는 나타나지 않았다. 그리고, 치어의 체내 미량금속 분석에서 나타난 특정 원소의 검출 또한 사육수에는 나타나지 않았다. 이러한 결과로 생각해 볼 때, 치어는 체내에 필요한 미량금속의 농축을 생리학적인 기작을 통하여 수행한다고 볼 수 있다. 이러한 사실은 Pörtner et al.(2011)의 논문에서 확인할 수 있다.

사육수 분석 결과, 실험 디자인 시기에 설정한 이산화탄소의 농도와 실제 사육수 내에서 측정된 이산화탄소 농도 사이에는 약간의 차이가 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 이는 미루어 짐작하건데, 사육수조가 밀폐되어 있지 않고, 실내사육이 진행되는 동안 사육실의 출입문이 열리고 닫히는 것으로 인해 실내의 이산화탄소 농도가 지속적으로 변화하고 이러한 것이 사육수와 대기 간의 화학적 평형 현상에 의해 사육수 내의 이산화탄소 농도가 변화하게끔 만들었다고 추정된다. 이러한 것은 이산화탄소 센서를 이용한 실내 이산화탄

소 농도의 변화 추이를 관찰한 결과에서 확인할 수 있다. 단지 사육실의 문을 여는 것 만으로 1000ppm이었던 이산화탄소 농도가 400ppm으로 내려가는 현상을 실시간 사육실 이산화탄소 농도 측정 결과 확인할 수 있었다. 이러한 것을 볼 때, 사육수조의 디자인을 밀폐형으로 하는 것이 더 좋겠지만, 그럴 경우에 어류의 치어 사육이라는 실험의 특성상 주기적으로 수조의 먹이생물 밀도를 확인해가며 먹이를 공급해야 하지만 그것이 어렵고, 바닥에 가라앉는 먹이 찌꺼기와 배설물, 사망개체를 제거하는 것 역시 어렵게 되어 결국 사육 실험 자체가 어렵게 되는 경우를 이전의 실험에서 경험할 수 있었다. 그리고 또한 이러한 사실은 해양 산성화를 연구하는 과학자들에 의해 지속적으로 제기되어온 문제이기도 하다(Watson et al., 2009). 이러한 문제점을 보완하기 위해 최근에는 사육환경을 유수식으로 하되 반 밀폐형으로 장치를 디자인하는 예들이 나타나고 있다(Kimura et al., 2011).

결국, 이러한 예상 이산화탄소 농도와 실제 관측치와의 차이를 줄이기 위한 방법을 생각해야만 하는데, 그 중 하나는 실험실 전체를 하나의 닫힌 계로 만들어서 내부 대기의 이산화탄소 농도를 일정하게 유지하는 방법을 생각해 볼 수 있다. 하지만 이런 방법은 실험을 설계하기 위해서 많은 재정을 요구하고 관리가 까다롭게 된다는 점이 단점으로 생각된다. 그리고 또 다른 하나는 준비 실험 단계에서 짧은 시간 간격으로 사육수를 채수하여 용존 이산화탄소 계산에 필요한 TA, 온도, 염도, pH 등과 같은 측정 인자들을 조사한 후, 계산된 용존 이산화탄소 수치에 의거하여 이산화탄소와 외부공기의 혼합율을 변

화시켜 실험에서 요구하는 용존 이산화탄소 수치를 찾는 방법이 있다. 이러한 방법은 시간이 많이 걸리지만, 많은 재정을 요구하지 않는다는 장점이 있다.

앞으로는 위의 두 가지 방법을 절충하여 적은 재정으로 관리가 쉬우며 높은 정확도를 가지는 해양산성화 실험 장치를 설계하여 현장에서 실용화 할 수 있도록 하는 노력이 필요하다.



V. 참고문헌

한경호, 김용억. (1997a), 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 초기생활사에 관한 연구(I. 난발생과정 및 자치어의 형태발달). 여수수산대학교논문집, 11(2), 105-117.

Korean Statistical Information Service. (2010), 양식업 현황 통계자료, <http://www.kosis.kr/>.

Campana, S.E. and Neilson, J.D. (1985), Microstructure of Fish Otoliths. Can. J. Fish Aquat. Sci 42, 1014-1032.

Checkley, Jr, D.M., Dickson, A.G., Takahashi, M., Radich, A., Eisenkolb, N., Asch, R. (2009), Elevated CO₂ Enhances Otolith Growth Young Fish. Science 324.

Cooper, C.A., Whittamore, J.M., and Wilson, R.W. (2010), Ca²⁺-driven intestinal HCO₃⁻ secretion and CaCO₃ precipitation in the European flounder *in vivo* : influences on acid-base regulation and blood gas transport. American Journal of Physiology 298, R876-6

Dickson, A.G., Sabine, C.L., Christina, J.R.(Eds.) (2007), Guide to best practices for ocean CO₂ measurement., PICES Special Publication 3, 191pp.

Dixson, D.L., Munday, P.L., Jones, G.P. (2010), Ocean acidification disrupts

the innate ability of fish to detect predator olfactory cues. *Ecology Letters* 13, 68–75.

Edmonds, J.S., Moran, M.J., Caputi, N., Morita, M. (1989), Trace Element Analysis of Fish Sagittae as an Aid to Stock Identification: Pink Snapper (*Chrysophrys auratus*) in Western Australian Waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46, 50–54.

Gazeau, F., Quiblier, C., Jansen, J.M., Gattuso, J.P., Middelburg, J.J., Heip, C.H.R. (2007), Impact of elevated CO₂ on shellfish calcification. *Geophysical Research Letters* 34, L07603.

Hwang, I.J., Park, M.C., Baek, H.J. (2009), Preliminary Study of the Effects of CO₂ on the Survival and Growth of Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) Juveniles. *Fish Aqua Science* 12(4), 350–353

Kawashima, S., Hama, T., Satoh, Y., Shimotori, K., Omori, Y., Adachi, T., Hasegawa, S., Endoh, H., Nakayama, T., Inoue, I., Midorikawa, T., Ishii, M., Saitoh, S., Sasano, D. (2010), Experimental study on the effect of acidification of seawater on structure of coastal phytoplankton population. AGU Ocean Sciences Meeting. [np]. 22–26 Feb 2010.

Kimura, R., Takami, H., Ono, T., Onitsuka, T., Nojiri, Y. (2011), Effects of elevated pCO₂ on the early life development of the commercially important gastropod, Ezo abalone *Haliotis discus hannai*. *Fish Oceanogr.* 20:5, 357–366.

Lewis, E., and Wallace, D,W,R. (1998), Program Developed for CO₂ System Calculations. ORNL/CDIAC-105. Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, Tennessee.

Mitsuguchi, T., Matsumoto, E., Abe, O., Uchida, T., Isdale, P.J. (1996), Mg/Ca Thermometry in Coral Skeletons. *Science* 274, 961–963.

Munday, P,L., Donelson, J,M., Dixson, D,L., Endo, G,G,K. (2009), Effects of ocean acidification on the early life history of a tropical marine fish. *Proc. R. Soc. B* 276, 3275–3283.

Orr, J,C., Fabry, V,J., Olivier, A., Bopp, L., Doney, S,C., Feely, R,A., Gnanadesikan, A., Gruber, N., Ishida, A., Joos, F., Key, R,M., Lindsay, K., Maier-Reimer, E., Matear, R., Monfray, P., Mouchet, A., Najjar, R,G., Plattner, G,K., Rodgers, K,B., Sabine, C,L., Sarmiento, J,L., Schliter, R., Slater, R, D., Totterdell, I,J., Weirig, M,F., Yamanaka, Y., Yool, A. (2005), Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437, 681–686.

Pötner, H,O. (1994), Coordination of metabolism acid–base regulation and haemocyanin function in cephalopods. *Physiology of cephalopod molluscs: lifestyle and performance adaptations.*, 131–48. Gordon and Breach, London.

Sabine, C,L., Feely, R,A., Gruber, N., Key, R,M., Lee, K., Bullister, J,L.,

Wanninkhof, R., Wong, C.S., Wallace, D.W.R., Tilbrook, B., Millero, F.J., Peng, T.H., Kozyr, A., Ono, T., Rios, A.F. (2004), The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science* 305, 367–371.

Scott, C.D., Victorial, J.F., Richard, A.F., Joan, A.,K. (2009), Ocean Acidification: The Other CO₂ problem. *Marine Science Annual Review*, 169–192.

Sohn, D.H., Kang, S.K., Kim, S.A. (2005), Stock Identification of Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) Using Trace Elements in Otoliths. *Journal of Oceanography* 61, 305–312.

Turley, C., Blackford, J., Widdicombe, S., Lowe, D., Nightingale, P. (2006), Reviewing the Impact of Increased Atmospheric CO₂ on Oceanic pH and the Marine Ecosystem. *Avoiding Dangerous Climate Change*, 65–70.

Watson, S., Southgate, P., Tyler, P. and Weiner, S. (2009), Early larval development of the Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* under near-future predictions of CO₂ driven ocean acidification.

Yasuo, M., Norimitsu, W. (1977), Studies on fish scale formation and resorption–II. Effect of estradiol on calcium homeostasis and skeletal tissue resorption in the goldfish, *Caressius auratus*, and the killifish, *Fundulus heteroclitus*. *Physiology* volume 57, 197–202

Appendix 1. Concentration of chemical elements measured from larvae of olive flounder *Paralichthys olivaceus* after 4 weeks experiment. (unit : mg/kg)

Sample (May)	Na	K	Ca	Mg	P	B	Zn	Si	Fe	Cu	Ba	Mn	Sr	As, Sn, Ti, Se, Mo, Sb, Pb, Ni, Co, Cd, Cr, V, Al, Be, Ag, Ti, Li (17 ea)
400ppm	no data	no data	10788.0	1967.6	no data	no data	44.4	no data	36.4	1.76	no data	2.40	43.6	N.D
850ppm	no data	no data	21536.0	3294.8	no data	no data	81.8	no data	47.2	2.12	no data	3.40	81.2	N.D
1550ppm	no data	no data	34096.0	5376.0	no data	no data	118.6	no data	61.2	2.24	no data	5.40	138.8	N.D

(N.D : not detected)

Appendix 1(continued). Concentration of chemical elements measured from larvae of olive flounder *Paralichthys olivaceus* after 4 weeks experiment. (unit : mg/kg)

Sample (June)	Na	K	Ca	Mg	P	B	Zn	Si	Fe	Cu	Ba	Mn	Sr	As, Sn, Ti, Se, Mo, Sb, Pb, Ni, Co, Cd, Cr, V, Al, Be, Ag, Ti, Li (17 ea)
400ppm	30860.8	16093.0	28659.89	3684.01	21631.00	42.73	83.43	19.33	29.50	2.03	1.02	3.05	115.98	N.D
850ppm	40242.8	13302.4	25750.52	5233.28	22272.37	76.13	88.58	27.68	33.22	2.77	1.38	2.77	130.11	N.D
1550ppm	32008.1	14190.1	31089.67	3690.83	25257.49	106.36	87.75	63.82	42.55	5.32	N.D	2.66	124.98	N.D

(N.D : not detected)

Appendix 1(continued). Concentration of chemical elements measured from larvae of olive flounder *Paralichthys olivaceus* after 4 weeks experiment. (unit : mg/kg)

Sample (July)	Na	K	Ca	Mg	P	B	Zn	Si	Fe	Cu	Ba	Mn	Sr	As, Sn, Ti, Se, Mo, Sb, Pb, Ni, Co, Cd, Cr, V, Al, Be, Ag, Ti, Li (17 ea)
400ppm	21650.6	17686.84	19791.77	3191.25	24083.63	17.12	97.82	41.57	39.13	2.45	1.22	3.67	78.25	N.D
850ppm	33235.1	14709.98	19429.76	4846.53	22458.29	25.95	123.76	85.83	47.91	5.99	N.D	3.99	101.80	N.D
1550ppm	30506.1	13741.53	20612.29	4621.54	24067.30	23.74	116.73	39.57	41.55	3.96	N.D	3.96	100.90	N.D

(N.D : not detected)

감사의 글

먼저 늘 나와 함께 하시는 하나님께 영광을 돌립니다.

이 논문이 완성되기까지 그 누구보다 신경 써주시고 지도와 도움을 아끼지 않으신 김수암 교수님께 감사 드립니다. 처음으로 해양산성화라고 하는 연구 분야를 저에게 추천하시고 아무것도 모르는 저를 학위를 취득하기까지 이끌어주신 은혜에 말로 표현하지 못할 만큼 감사를 드립니다.

실험을 하는 시간동안 많은 조언과 실질적인 도움을 아끼지 않으신 백혜자 교수님과 수산과학원의 심정희 연구사님께도 감사를 드립니다. 두 분의 세심한 관심과 조언으로 이 논문이 다듬어져서 한 권의 책으로 세상에 나올 수 있게 되었습니다.

제가 석사과정을 지내는 동안 동고동락해온 우리 수산해양학 실험실 선배님들께도 감사 드립니다. 선배님들의 충고와 배려로 큰 어려움 없이 실험실 생활을 잘 해올 수 있었습니다. 그리고 우리 해양생물학과 선배님들께도 감사를 드립니다. 선배님들의 조언은 이 논문의 완성도를 한층 더 높여주었습니다.

이 논문이 나오는데 있어 중요한 부분인 수정란을 지속적으로 공급해 주신 전남 여수 경양수산 사장님과 직원분들께 감사드립니다.

마지막으로, 나이 먹어서 공부만 하는 다 큰 아들을 위해 늘 기도하시고 신경 써주시는 부모님과 사랑하는 나의 신부 혜진에게도 감사드립니다.