

## PD7) 적조생물에 대한 유용 어·패류의 반응

이삼근\*, 김창숙<sup>1</sup>, 임월애, 이영식, 조은섭<sup>2</sup>

국립수산과학원 양식환경연구소, <sup>1</sup>제주하이테크산업진흥원 전략산업기획단, <sup>2</sup>국립수산과학원 남해수산연구소

### 1. 서 언

유해성 적조현상은 우리나라 연안에서 광범위하게 발생하여 양식생물 또는 정착생물을 폐사 시켜 엄청난 수산피해를 일으키고 있다. 특히 유해성 종으로 알려진 *Cochlodinium polykrikoides*의 적조는 발생 빈도와 규모가 갈수록 커지고 있으므로, 유해성 적조발생으로 인한 피해원인규명과 적조생물에 대한 유용어류 및 패류의 반응을 조사하여 적조예보를 위한 자료 활용 및 피해원인 규명을 규명하기 위하여 적조생물에 대한 수산생물의 반응을 조사하였다.

### 2. 재료 및 방법

적조생물의 채집은 1996부터 2003년까지 97%이상의 단일 종에 의한 적조가 발생한 해역에서 채집하였으며, 이것을 50 L 반투명 플라스틱 통에 넣어  $\phi 3$  cm되는 둥근 에어스톤을 각 수조에 넣어서 air blower로 공기를 넣어 주면서 반응을 관찰하였다. 또한 시험수조 내의 적조생물 세포수 밀도를 유지하기 위하여 수시로 적조생물을 채집하여 신선한 적조생물을 첨가시켰으며, 각 계열의 밀도를 최대한 유지시켰다. 한편, 적조생물의 밀도 측정은 실험수조의 구간별 시료를 잘 교반하여 20 mL 유리 바이알(Wheaton)에 Lugol 용액을 3 mL 정도로 첨가한 후 Micropipette으로 시료를 0.1 mL을 뽑아 Sedgwick-Rafter계수판에 놓고 현미경 하에서 계수하였다. 공시생물의 폐사 판정은 어류의 경우 육안상 혹은 손으로 만져서 전혀 유동이 없을 때, 패류의 경우에는 패각이 벌어져 손으로 만지면 패각의 움직임이 전혀 없을 때 폐사로 간주하였다. 그리고 관찰 주기는 적조생물의 급성반응을 나타낼 수 있는 48시간 동안을 2시간 간격으로 실시하였다. 또한 *C. polykrikoides* 적조의 유독성 물질의 존재 여부를 확인하기 위하여 *C. polykrikoides*조체를 수용성 및 지용성으로 분획 한 다음 마우스 복강에 주사하여 24시간 동안 반응을 관찰하였다. 또한 어류치사 요인을 규명하기 위해 적조생물이 생산하는 점액물질과 유해활성산소 화학종을 분석하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. *Heterosigma akashiwo*에 대한 수산생물의 반응

한국연안에서 초봄에서 초여름에 걸쳐 농밀한 적조를 일으키는 *H. akashiwo*를 1996년 6월 농밀한 적조를 일으킨 마산만에서 채집하여 넙치(체장 약 4cm) 치어를 대상으로 생물반응 실험을 실시하였다. *H. akashiwo*의 밀도구간은 10,000 cells/mL, 30,000 cells/mL, 50,000

cells/mL, 100,000 cells/mL, 대조구로 구분하여 공시생물을 10마리씩 수용하였다. 그리고 수온(19~21℃) 및 광주기는 인위적 조절 없이 그대로 두었다. 실험결과 넙치 치어는 *H. akashiwo* 적조 밀도가 10,000 cells/mL~70,000 cells/mL에서 48시간 경과 시까지 특이한 반응을 나타내지 않았다.

### 3.2. *Heterocapsa triquetra*에 대한 수산생물의 반응

우리나라 남해안의 마산만과 진해 행암만에서 초봄에 적조를 일으키는 *H. triquetra*를 1998년 3월 행암만에서 적조발생시 채집하여 어류의 경우 넙치 치어(체장 약 5cm), 패류의 경우 굴(각장 약 7cm)과 홍합(각장 약 7.5 cm)을 수용하여 생물반응실험을 실시하였다. *H. triquetra*의 밀도구간은 10,000 cells/mL, 20,000 cells/mL, 30,000 cells/mL, 50,000 cells/mL 및 대조구로 구분하여 공시생물을 10마리씩 수용하였다. 그리고 산소공급기로 용존산소를 충분히 공급하였으며, 수온과 광주기는 자연 그대로 두었다. 실험결과 *H. triquetra*는 공시생물에 대한 직접적인 유해성은 없었다. 다만 홍합의 경우 극히 일부 폐사가 발생되었으나 이것은 산란 후 생리장애와 *H. triquetra*가 먹이로서 부적당하였기 때문으로 생각되었다.

### 3.3. *Prorocentrum micans*에 대한 수산생물의 반응

우리나라 전 연안에서 늦은 봄철에서 여름철에 자주 적조를 일으키는 *P. micans*를 1998년 6월 마산만에서 채집하여 어류의 경우 넙치(체장 약 17cm)와 조피볼락(체장 약 6 cm), 패류의 경우 굴(각장 약 2 cm), 피조개(각장 약 11 cm) 및 홍합(각장 약 7 cm)을 대상으로 이들의 반응을 조사하였다. *P. micans*의 밀도구간은 5,000 cells/mL, 10,000 cells/mL, 20,000 cells/mL, 30,000 cells/mL, 대조구로 설정하여 공시생물을 각 수조별로 10마리씩 수용하였다. 그리고 수온과 광주기는 자연 그대로 두었다. 실험결과 상기 공시생물인 어류와 패류에 대하여 직접적인 유해성은 나타나지 않았다.

### 3.4. *Cochlodinium polykrikoides*에 대한 수산생물의 반응

1998년 9월 남해도 주변해역에서 발생한 *C. polykrikoides*에 대한 유해성의 정도를 밝히기 위하여 어류의 경우 넙치(체장 약 21 cm), 조피볼락(체장 약 25 cm), 쥐치(체장 약 22 cm), 참돔(체장 약 23 cm), 돌돔(체장 약 23 cm) 및 볼락(체장 약 19 cm), 패류의 경우 굴(각장 약 5 cm), 피조개(각장 약 6 cm), 홍합(각장 약 7 cm) 및 전복(각장 약 4.5 cm)을 대상으로 생물반응실험을 실시하였다. *C. polykrikoides*의 밀도구간은 1,000 cells/mL, 2,000 cells/mL, 3,000 cells/mL, 5,000 cells/mL, 8,000 cells/mL 및 대조구로 구분하였다. 그리고 수온은 자연상태(약 24℃)로 두었으며, 광주기는 12L:12D 조절하였다. 실험결과 쥐치는 3,000 cells/mL 이상에서 폐사가 일어났고, 8,000 cells/mL에서는 5시간 이내에 100% 폐사하였다(그림 1). 참돔은 4,000 cells/mL 이상에서 폐사가 일어났고, 8,000 cells/mL에서는 10시간 경과시 100% 폐사하였다(그림 2). 돌돔은 5,000 cells/mL 이상에서 폐사가 일어났고, 8,000 cells/mL에서는 18시간 경과시 100% 폐사하였다. 볼락은 8,000 cells/mL 이상에서만 6시간 경과시 폐사가 시작되어, 48시간 동안 약 35% 폐사하였다. 넙치는 8,000 cells/mL 이상에서만 15시간 경과시 폐사가 시작되어, 48시간 동안 약 35% 폐사하였다. 그리고 조피볼락은 48시간 동안 폐사가 없었다. 한편 공시생물로 사용된 패류로서 굴, 피조개, 홍합, 전복은 직접적인 유해성을 나타내지 않았다.

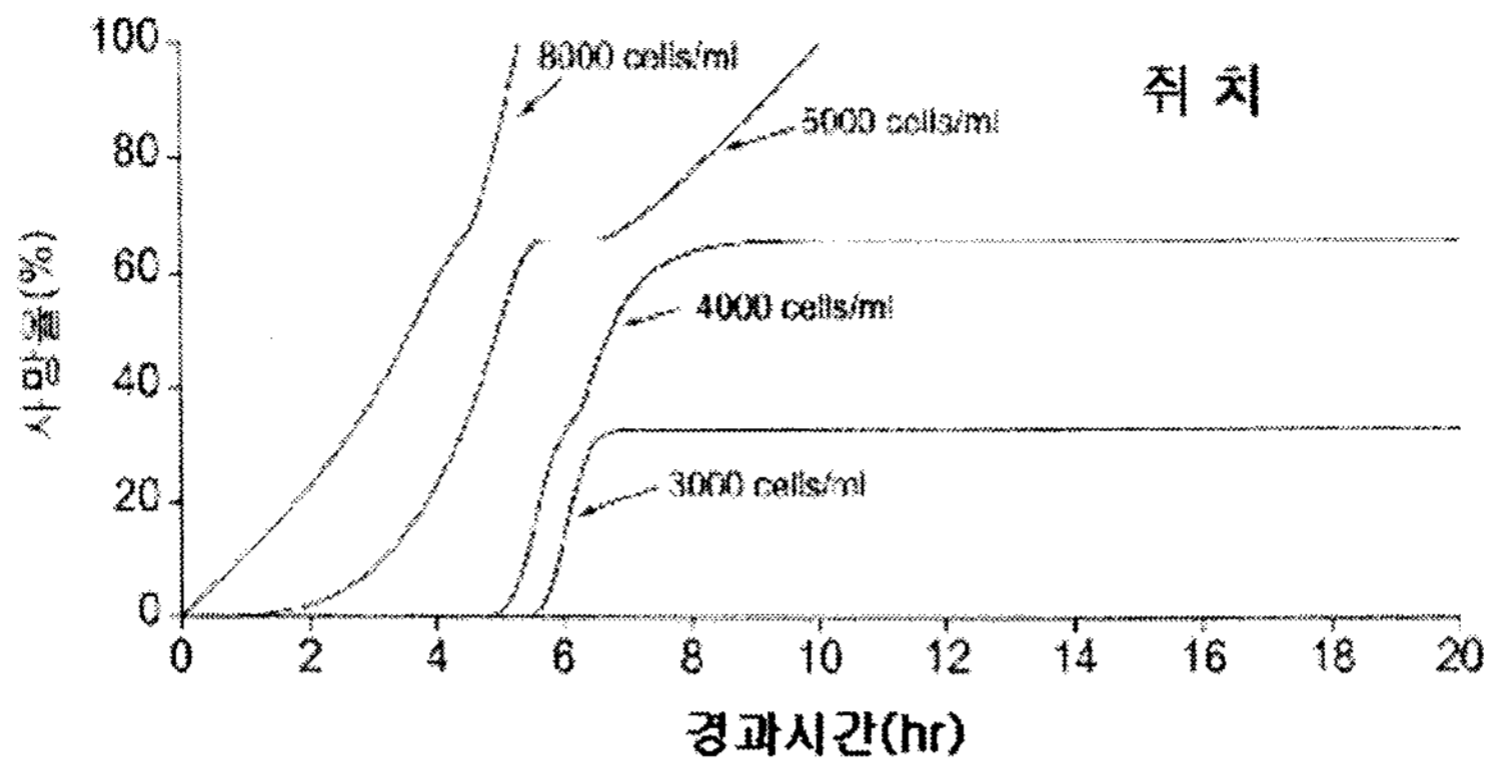


그림 1. *C. polykrikoides*에 대한 쥐치의 유해성 반응.

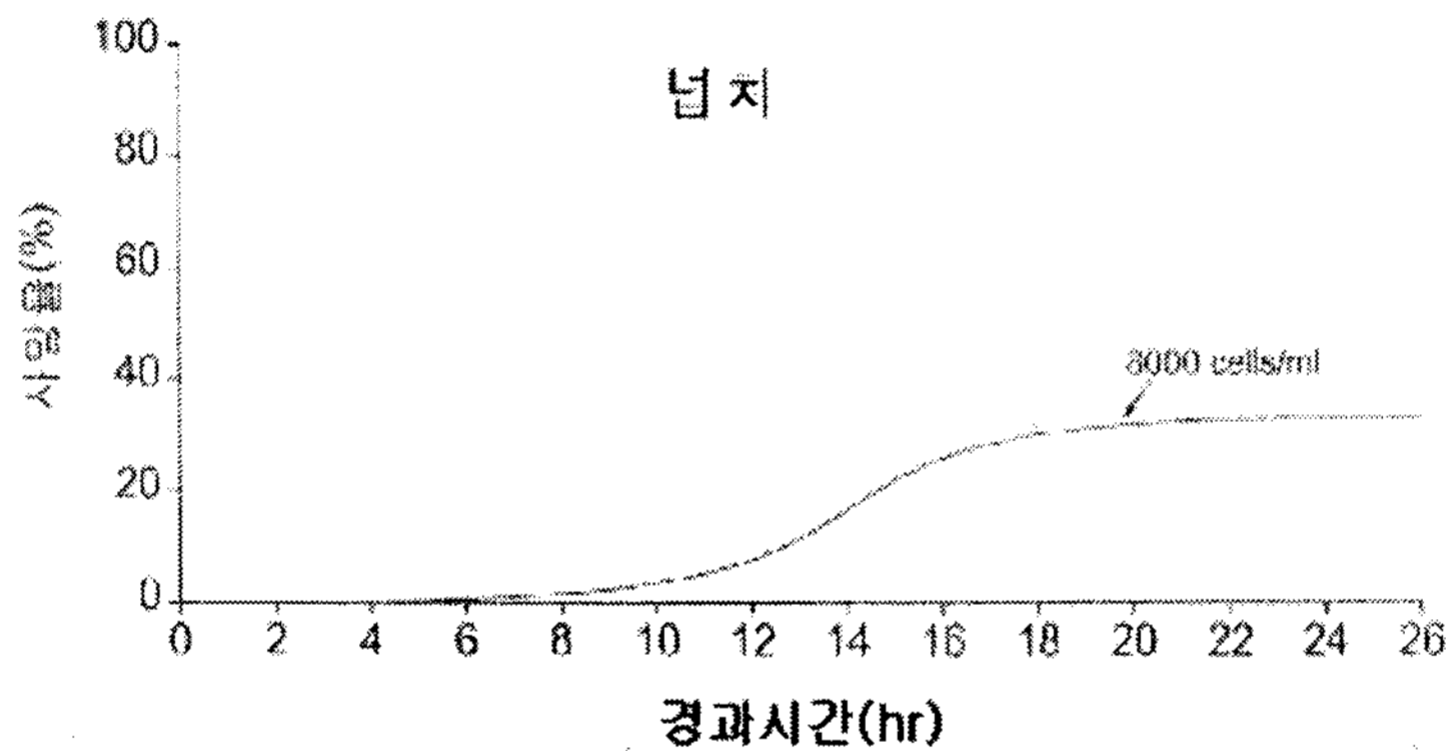


그림 2. *C. polykrikoides*에 대한 넙치의 유해성 반응.

그리고 1999년 9월 발생한 *C. polykrikoides* 적조에 대한 어류의 유해성을 평가하기 위하여 1999년 남해도 미조 연안에서 채집된 *C. polykrikoides*를 1,000-8,1000 cells/mL의 농도 구간으로 조절된 시험구에 넙치(체장 약 28 cm), 볼락(체장 약 20 cm), 쥐치(체장 약 26 cm), 참돔(체장 29 cm)을 각각 수용하여 48시간 동안의 어류의 반응을 조사하였다. 어류 폐사를 유발시키는 적조농도는 약 3,000 cells/mL 이상으로 참돔 ≥ 돌돔 > 쥐치 > 우럭 > 볼락 ≥ 넙치 순으로 활동성 어류가 정착성 어류에 비하여 *C. polykrikoides* 적조에 민감하게 반응하였다(표 1).

적조생물 *C. polykrikoides*의 유독성 물질의 존재 여부를 확인하기 위하여 1998년 남해 미조연안에 발생한 적조를 채집한 후, 수용성 및 지용성 성분을 추출하여 마우스의 복강 주사하여 24시간 동안 반응을 조사하였다. 고농도의 수용성 획분 (30~40 mg/ml)에서는 복강주사 5분 후 경련 및 부분마비 증상을 보였으나 약 10 시간 경과 후 정상상태로 회복하였다. 지용성 획분은 50 mg/ml 상당량을 주사하였지만 24시간 동안 정상상태를 유지하였다(표 2). 수용성 획분에서 나타난 증상은 다량의 이물질이 과다 투입에 따른 일시적인 쇼크반응으로 여겨졌다. 따라서 *C. polykrikoides* 적조에는 마우스를 치사시키는 유독 성분이 없음을 나타내었다.

표 1. *C. polykrikoides* 적조에 노출된 어류의 폐사율

어 종	적조농도 (cells mL <sup>-1</sup> )	치사율 (%)	첫 치사 시간 (h)
쥐 치	8,000	100	2
	5,000	100	3.5
	3,000	3	6
참 돔	8,000	100	2
	5,000	60	3
	3,000	20	10
돌 돔	8,000	100	2.5
	5,000	30	10
	3,000	20	10
우 렉	8,000	60	3
	5,000	30	10
	3,000	0	-
불 락	8,000	30	10
	5,000	0	-
넙 치	8,000	30	12
	5,000	0	-
대조구	0	-	-

표 2. *C. polykrikoides* 적조 추출물의 마우스 독성

추출물	농도 (mg/ml)	증 상	비 고
수용성 성분	10	정 상	
	30	경련, 부분마비 (복강주사 5분 후)	9시간 후 회복
	40	아치사 현상 (복강주사 3분 후)	12시간 후 회복
지용성 성분	10~50	정 상	

또한 *C. polykrikoides* 적조의 어류치사 요인을 파악하기 위하여 적조생물이 생산하는 점액물질을 분석하였다. *C. polykrikoides*이 생산하는 점액물질은 다른 적조생물 (*Eutreptiella gymnastica*, *Prorocentrum micans*, *Heterosigma akashiwo*, *Gymnodinium sanguinum*, *Alexandrium tamarense*)보다 훨씬 많았다(표 3). 이들 점액질 성분은 어류의 아가미에 부착하여 산소공급을 저해시킴으로서 어류는 호흡곤란을 받아 질식되는 것으로 여겨지고 있다. 그리고 *C. polykrikoides* 적조생물이 생산하는 유해활성산소 화학종인 슈퍼옥사이드(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)를 0.5 nmol/10<sup>4</sup>cell/min, 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 1.5 nmol/ 10<sup>4</sup>cell/min 발생시키며(그림 3), 이들 활성산소는 리포좀막 지질과 어류 아가미 조직의 지질 과산화를 일으킬 수 있다. 즉 활성산소 화학종은 어류의 아가미 세포에 산화적 피해를 야기시켜 세포의 기능을 저하시킴으로서 어류의 호흡곤란을 일으킨다.

표 3. 적조원인 생물체가 생산하는 다당류

적 조 생 물	Polysaccharides ( $\mu\text{g}/10^4\text{cells}$ )
<i>Alexandrium tamarense</i>	7.25
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	36.70
<i>Eutreptiella gymnastica</i>	24.80
<i>Gyrodinium impudicum</i>	39.00
<i>Heterosigma akashiwo</i>	0.37
<i>Prorocentrum micans</i>	4.25
<i>P. minimum</i>	2.30
<i>P. triestum</i>	4.60
<i>Pyraminonas</i> sp.	0.43
<i>Scrippsiella trochoidea</i>	1.70

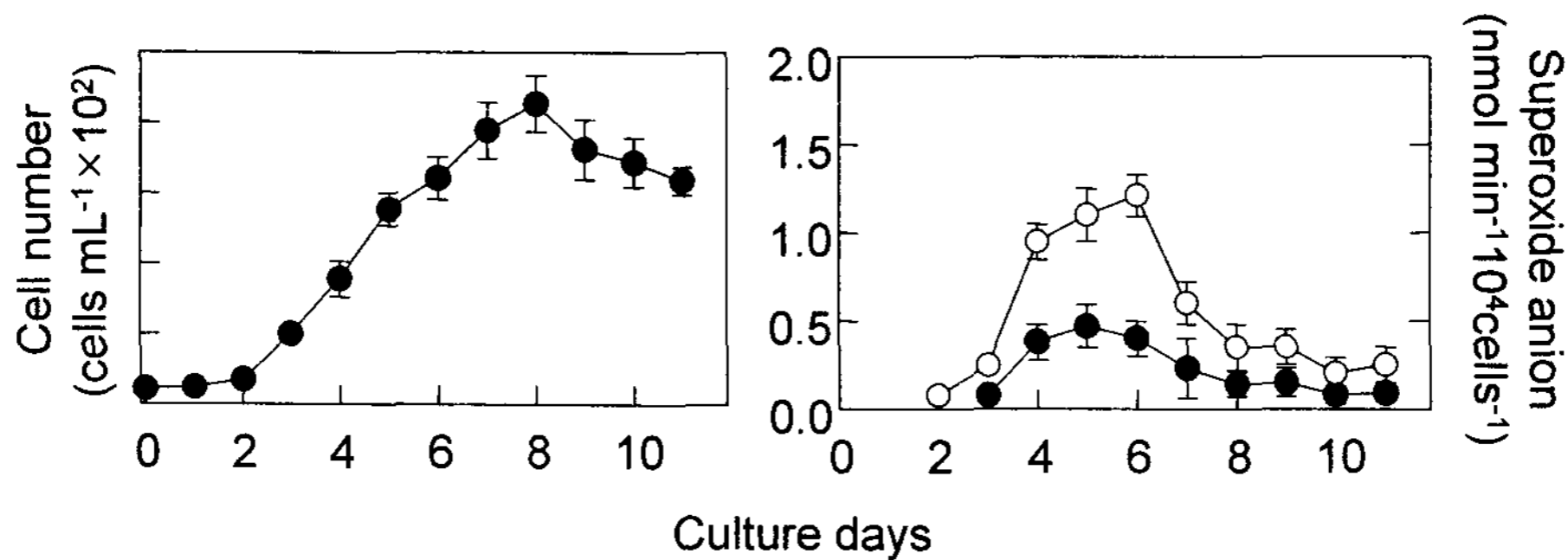


그림 3. *C. polykrikoides* 성장에 따른 활성산소 발생.

또한 적조생물 *C. polykrikoides*에 의해서 생산된 점액물질은 어류의 아가미에 부착하여 mucus 세포를 자극시켜 점액성분을 과다 분비시킨다(표 4). 과다 분비된 점액성분은 아가미 표면을 재 도말 시켜 산소공급을 물리적으로 방해시키는 것으로 여겨진다.

따라서 *C. polykrikoides* 적조에 노출된 어류의 치사요인은 적조에 노출된 어류는 점액물질 등과 같은 복합적인 원인인자에 의하여 아가미 세포의 기능적, 구조적 변화를 당하게 된다. 그러므로 아가미 세포의 고유기능인 산소수송 능력이 저하되어 어류는 질식사태가 되고 궁극적으로 폐사되는 것으로 여겨진다.

표 4. *C. polykrikoides*에 노출된 어류 아가미의 다당류 함량 변화

어 종	다당류 ( $\mu\text{g mucus/g gill tissue}^{-1}$ )		
	대조구	적조 노출 24h	폐사 직전
취 치	221.7	252.4 (14)	263.6 (19)
참 돔	245.6	305.6 (24)	330.3 (34)
돌 돔	259.6	282.4 (9)	345.3 (33)
우 렉	211.3	231.7 (10)	245.0 (16)
볼 락	259.8	289.8 (12)	296.4 (13)
넙 치	134.2	147.5 (10)	165.1 (23)

## 참 고 문 헌

- Endo, M., R. Foscarini and A. Kuroki, 1988. Electrocardiogram of a marine fish, *Pagrus major*, exposed to red tide plankton *Chattonella marina*. *Marine Biology* 97, 477~481.
- Ishimatsu, A., H. Maruta and T. Tsuchiyama, 1990. Respiratory, ionoregulatory and cardiovascular responses of the yellowtail *Seriola quinqueradiata* to exposure to the red tide plankton *Chattonella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(2), 189~199.
- Jones, J. B., and L. L. Rhodes, 1994. Suffocation of pilchards (*Sardinops sagax*) by a green microalgal bloom in Wellington harbour, New Zealand. *J. Mar. Fresh. Res.*, vol 28, no 4, 379~383.
- Lee, S. G., H. G. Kim, E. S. Cho and C. K. Lee, 2003. Mortality of Fishes and Shellfishes to Harmful Algal Blooms. *J. Fish. Sci. Tech.*, 6(3), 160~163.
- Matsuyama, Y., K. Nagai, T. Mizuguchi, M. Fujiwara, M. Ishimura and M. Yamaguchi, 1995. Ecological features and mass mortality of pearl oysters during red tides of *Heterocapsa* sp. in Ago bay in 1992. *Nippon Suisan Gakkaishi* 61(1), 35~41.
- Onoue, Y., K. Nozawa, K. Kumanda, K. Takeda and T. Aramaki, 1985. Toxicity of *Cochlodinium* type '78 Yatsushiro occurring in Yatsushiro sea. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 51(1), 147.
- Qi, D., Y. Huang and X. Wang, 1993. Toxic dinoflagellate red tide by *Cochlodinium* sp. along the coast of Fujian, China. *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. 235~238.
- Robineau, B., J. A. Gagne, L. Fortier and A. D. Cembella, 1991. Potential impact of a toxic dinoflagellate (*Alexandrium excavatum*) bloom on survival of fish and crustacean larvae. *Marine Biology*, 108, 293~301.
- Toyoshima, T., H. S. Ozaki, T. Okaichi and T. H. Murakami, 1995. Ultrastructural alterations on chloride cells of the yellowtail *Seriola quinqueradiata*, following exposure to the red tide species *Chattonella antiqua*. *Marine Biology* 88, 101~108.
- Yuki, K. and S. Yoshimatsu, 1987. Two fish-killing species of *Cochlodinium* from Harima Nada, Seto Inland sea, Japan. *International symposium on red tides, Japan*, 10~14.